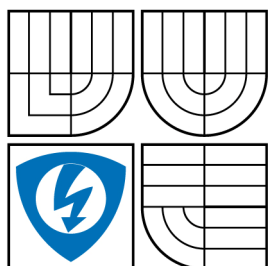


VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



**FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH
TECHNOLOGIÍ
ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ**

**FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING**

ANALÝZA AKČNÍCH POTENCIÁLŮ SRDEČNÍHO SVALU

ANALYSIS OF MYOCARDIAL ACTION POTENTIALS

DOKTORSKÁ PRÁCE

DOCTORAL THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

ING. ROMAN VOPÁLKA

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

PROF. ING. JIŘÍ JAN, CSC

BRNO 2009

Poděkování

Mé poděkování především patří všem mým spolupracovníkům z kardiologického oddělení nemocnice Na Homolce, kolegům z vývojového centra firmy VITATRON – MEDTRONIC, se kterými jsem úzce spolupracoval, dále pak firmě MEDTRONIC CZECHIA, která poskytla materiální podporu a odbornou literaturu nutnou ke vzniku této práce.

Zvláště bych rád poděkoval svému školiteli profesorovi Ing. Jiřímu Janovi, CSc. za cenné rady a vedení celé mé práce.

Můj dík patří i celému kolektivu oddělení kardiostimulace a srdeční elektrofyzologie, zejména docentovi MUDr. Miloši Táborskému, CSc i ostatním kolegům.

Obsah

1	ÚVOD.....	6
1.1	Definice a epidemiologie fibrilace síní.....	9
1.2	Prevalence a incidence.....	12
1.3	Klasifikace fibrilace síní.....	12
1.4	Komplikace fibrilace síní.....	13
1.5	Terapie.....	14
1.5.1	Medikamentózní terapie.....	14
1.5.2	Nefarmakologická léčba – kardiostimulace	15
1.5.2.1	Potlačení spouštěčů (triggrů).....	16
1.5.2.2	Potlačení fibrilace síní stimulací.....	17
1.5.3	Radiofrekvenční katetrizační ablace.....	17
1.5.3.1	Vývoj, strategie a ablační postupy při řešení síňových arytmií..	18
1.5.3.2	Ektopická ložiska mimo plicní žíly.....	19
1.5.3.3	Katetrizační ablace substrátu u permanentní nebo persistující FS.	19
2	SRDEČNÍ IONTOVÉ PROUDY A GENESE ARYTMÍ NA BUNĚČNÉ ÚROVNI.....	21
2.1	Iontové kanály a transportéry.....	21
2.1.1	Iontové kanály a transportéry v plazmatické membráně.....	21
2.1.1.1	Na ⁺ kanály.....	21
2.1.1.2	Ca ²⁺ kanály.....	24
2.1.1.3	K ⁺ kanály.....	27
2.1.1.4	Cl ⁻ kanály.....	35
2.1.1.5	Neselektivní kationové kanály a I _j kanál.....	38
2.1.1.6	Elektrogenní výměníky.....	42
2.1.2	Iontové kanály v intracelulárních organelách.....	46
2.1.2.1	Kanály sarkoplazmatického retikula.....	46
2.1.2.2	Mitochondriální kanály.....	48
2.1.3	Mezibuněčné iontové kanály (tzv. „gap junction channels“).	52
2.1.3.1.	Úvod k mezerovým spojům.....	52
2.1.3.2.	Vytváření mezerových spojů a strukturální otázky.....	53
2.1.3.3.	Chemické a napětřové vrátkování.....	53

2.1.3.4.	Propustnost.....	56
2.2	Elektrické změny a arytmie na buněčné úrovni.....	56
2.2.1	Hlavní mechanismus vzniku arytmií.....	56
2.2.2	Závěrečné poznámky a další perspektiva výzkumu.....	63
3	ZHODNOCENÍ SOUČASNÉHO STAVU V AMBULANTNÍ DIAGNOSTICE EKG SIGNÁLU.....	64
3.1	Holterova monitorace.....	64
3.1.1	Definice	64
3.1.2	Možnosti Holterovy monitorace.....	64
3.2	Přístroje pro dlouhodobou monitoraci srdečního rytmu.....	65
3.2.1	Záznamové zařízení ILR REVEAL® PLUS.....	66
4	METODIKA KLINICKÝ STUDIÍ.....	69
4.1	Charakteristika systému REVEAL® XT.....	69
4.1.1	Použití nástroje VECTOR CHECK.....	70
4.1.2	Nastavení citlivosti a detekce arytmií.....	73
4.1.3	Algoritmus identifikace epizod síňových arytmií.....	74
4.2	Studie XPECT.....	78
4.2.1	Kriteria pro zařazení do studie.....	79
4.2.2	Vylučující kriteria ze studie.....	79
4.2.3	Schéma studie	80
4.2.4	Protokol studie.....	81
4.2.4.1	Činnost v jednotlivých fázích protokolu.....	82
4.3	Studie VISIT.....	84
4.3.1	Kriteria pro zařazení do studie.....	85
4.3.2	Vylučující kriteria ze studie.....	86
4.3.3	Protokol studie VISIT.....	86
4.3.3.1	Činnost v jednotlivých fázích protokolu.....	86
5	NAMĚŘENÉ HODNOTY.....	89
5.1	Naměřené hodnoty studie XPECT.....	89
5.1.1	Kvantifikace P- a R-vlny před a po implantaci srdečního monitoru	89

5.1.2	Zhodnocení algoritmu detekce síňových arytmíí.....	93
5.1.2.1	Výkonnost funkce denního zatížení.....	93
5.1.2.2	Výkonnost funkce detekce epizod	95
5.2	Naměřené hodnoty studie VISIT.....	100
5.2.1	Variabilita amplitudy R-vlny.....	100
5.2.2	Interpretovatelnost R-vlny vzhledem k zatížení signálu šumem.	102
6	DISKUSE A ZHODNOCENÍ.....	105
6.1	Přehled zkratk a definic použitých při statistickém vyhodnocení..	105
6.2	Studie XPECT.....	107
6.2.1	Kvantifikace P- a R- vlny.....	107
6.2.2	Vyhodnocení funkčních vlastností software.....	109
6.2.2.1	Výkonnost funkce denního zatížení algoritmu.....	109
6.2.2.2	Výkonnost funkce detekce epizod.....	111
6.2.3	Shrnutí studie XPECT.....	127
6.3	Studie VISIT.....	128
6.3.1	Zhodnocení variability amplitudy R-vlny.....	128
6.3.2	Vyhodnocení interpretovatelnosti R-vlny vzhledem k zatížení signálu šumem.....	130
6.3.3	Shrnutí studie VISIT.....	130
7	ZÁVĚR.....	132
8	LITERATURA.....	135
	Příloha A – Certifikáty.....	159

1 ÚVOD

Existují data z poměrně početných prací, která informují o výsledcích analýzy srdečních signálů zaznamenaných tzv. ambulantním typem monitorace. Tím rozumíme škálu od jednorázového záznamu EKG až po přibližně 10-ti denní záznam. O něco méně lze nalézt specializované studie, která prezentují data z vyhodnocovacích zařízení pro dlouhodobé sledování srdečních signálů s periodou sledování do dvou let. Doposud však ještě nejsou známa data z kontinuální monitorace nemocných s fibrilací síní, které kromě jiného mohou napomoci k odhalení asymptomatických paroxysmů fibrilace síní. I asymptomatická fibrilace síní je z hlediska závažnosti možných tromboembolických komplikací stejně nebezpečná jako paroxysmy, které pacient vnímá. Většina autorů sledující úspěšnost ablačních technik měla dosud k dispozici pouze opakované Holterovské monitorace.

Jak bude uvedeno v kapitole 1.1 je nejvíce rozšířenou srdeční arytmií fibrilace nebo flutter síní. Uvedu možnosti ablačních technologií, které jsou založeny na nejmodernějších technologiích a které dávají předpoklad dobrých terapeutických výsledků. V souladu s tím však nebyly dostatečně sofistikované prostředky, jak hodnotit výskyt arytmií po ablačních výkonech. Z literatury je známo, že k uspokojivým terapeutickým výsledkům, tj. omezení atak síňových arytmií do kategorie paroxysmální fibrilace síní dle tabulky č.1, v ideálním případě může návrat k sinusovému rytmu trvat řadu měsíců až jeden a půl roku. Z tohoto důvodu se v klinické praxi doporučuje interval sledování pacienta minimálně jeden a půl roku, spíše však dva roky. Pod tlakem uvedených skutečností se vývoj v kvalitní detekci, zpracování a vyhodnocení srdeční aktivity ubírá směrem k dlouhodobé monitoraci srdečních signálů pomocí implantabilního srdečního monitoru. Z vedeného přehledu vyplývá i hlavní cíl předkládané práce.

Do klinické praxe byl uveden nejnovější model implantabilního srdečního monitoru, který má obchodní označení REVEAL[®] XT firmy MEDTRONIC a navazuje na předcházející starší model REVEAL[®] PLUS (kapitola 3.2). Vzhledem k tomu, že tento implantát, jehož kompletní analýza vlastností je předmětem této práce, je především určen pro diagnostiku síňového signálu konkrétně na arytmií síňové fibrilace jsou v tomto smyslu koncipované jednotlivé kapitoly práce.

Kapitola 1 je zaměřena na charakteristiku síňové fibrilace její negativní vlivy na populaci a dále zpracovává možnosti jak farmakologické, tak hlavně nefarmakologické možnosti léčby této arytmie. Pro objasnění vzniku arytmií na buněčné úrovni, kde hrají významnou roli iontové proudy a jejich vliv na genesi srdečních arytmií, uvádím proto přehled těchto aspektů v kapitole 2. Třetí kapitola se již zabývá technologiím určeným k detekci, zpracování a diagnostice EKG signálu, které jsou při vyhodnocování vlastností monitoru REVEAL[®] XT určeny jako referenční (Holterova monitorace). V závěru této kapitoly uvádím vlastnosti předcházejícího modelu implantabilního srdečního monitoru REVEAL[®] PLUS pro srovnání s novými možnostmi testovaného implantátu.

Současně s uvedením přístroje do klinické praxe byly odstartovány dvě klinické studie s názvy XPECT(278) (kapitola 4.2) a VISIT(279) (kapitola 4.3). Komplexní pohled na tyto studie včetně naměřených hodnot a vyhodnocení je pojednán v kapitolách 4, 5 a 6. Jedná se o historicky první studie s uvedeným implantátem. Pracoviště akutní kardiologie nemocnice Na Homolce bylo pověřeno participací na těchto naprosto unikátních multicentrických studiích. Na těchto projektech jsem měl možnost být spoluřešitelem v oblasti detekce a analýzy srdečních signálů. V České republice jsem byl pověřen pouze já tou částí, která řeší zpracování srdečního signálu tudíž i výsledky mé analýzy budou součástí dalšího vývoje implantabilních srdečních monitorů. Stěžejní úkoly, které mám za úkol řešit lze shrnout do dvou skupin, které se odlišují souborem analyzovaných dat a odpovídají protokolům uvedených studií, jak v technice získávání patientských dat, tak i ve způsobu jejich zpracování.

Cíle disertační práce

Ve studii XPECT jsou oblasti zájmu tyto:

1. Porovnání přesnosti mapovací techniky pod označením VECTOR CHECK při získávání optimálního signálu pro implantaci srdečního minitoru. Porovnává se P-vlna a R-vlna srdečního signálu před implantací a těsně po implantaci.
2. Výkonnost funkce denního zatížení. Jedná se o kvantifikaci přesnosti detekce všech epizod síňové fibrilace v období 24 hodin.

3. Výkonnost funkce detekce epizod. U tohoto parametru je úkolem kvantifikovat přesnost klasifikace všech forem arytmií a převážně vyhodnotit přesnost detekce fibrilace síní.

Ve studii VISIT jsou oblasti zájmu tyto:

1. Zhodnocení variability R-vlny v období po implantaci srdečního monitoru a dále v intervalech 3, 6, 9 a 12 měsíců.
2. Vyhodnocení interpretovatelnosti R-vlny zachycené implantátem REVEAL[®] XT vzhledem k neadekvátním signálům vznikajícím v důsledku oversensingu či undersensingu.

Jako srovnávací kritéria při statistickém vyhodnocování dat pro obě studie nám budou sloužit dva zdroje. První z nich je studie ASTERIX, která však byla vyhodnocena z povrchového EKG, je detailně zpracována a pro účely námi realizovaných studií vhodná. Druhým zdrojem informací pro analýzu získaných dat u pacientů jsou animální studie, které již využívaly implantabilní srdeční monitor REVEAL[®] XT.

Vzhledem k tomu, že se jedná o multicentrické studie a finální výsledky zatím nebyly oficiálně prezentovány zadavateli studií, výsledky, které předkládám, jsou prací kardiocentra nemocnice Na Homolce. Skupina pro studii XPECT je tvořena 25 pacienty a skupina pro studii VISIT zaujímá 50 pacientů.

Hlavní náplní předkládané práce, za pomoci výše uvedených cílů, je ověření první verze software z pohledu přesnosti detekce srdečních signálů implantovaným monitorem, jeho kvalitu zpracování a na základě těchto dat přesnost klasifikace jednotlivých typů komorové či síníové arytmiie.

Z těchto závěrů zhodnotím nedostatky aplikované verze software a na jejich základě pak bude vývojové centrum firmy MEDTRONIC optimalizovat následující verze software.

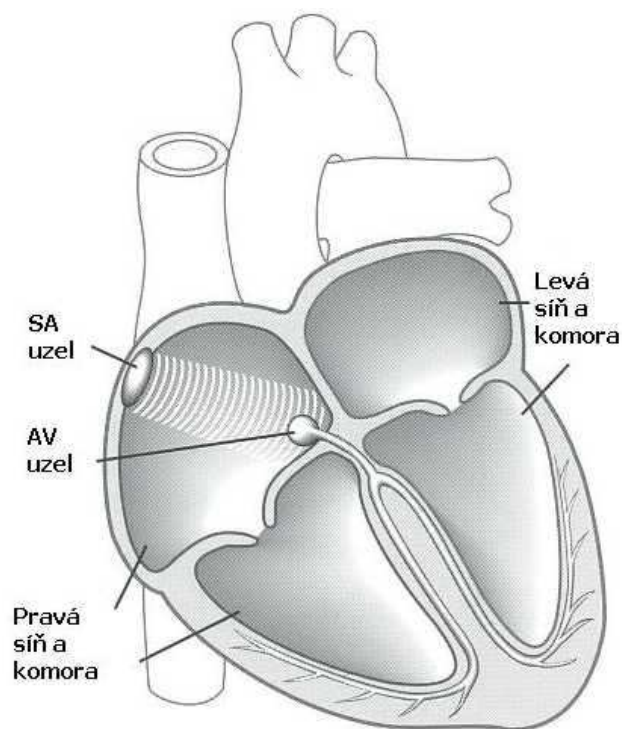
Obrázky použité v této práci jsou produktem jednotlivých etap zpracovávání tématu práce vyjma obrázků, které jsou převzaty a označeny příslušnou literaturou.

1.1 Definice a epidemiologie fibrilace síní

Mechanická práce srdce je řízena vlastním srdečním elektrickým systémem tzv. převodním systémem dle obr. 1. U zdravého srdce prvotní elektrický impulz pro každý stah vychází ze zvláštní části pravé síně, která se nazývá sino-atriální (SA) uzel. Z tohoto SA uzlu se impulz rozprostírá postupně přes celou pravou a levou síň, aby následně dosáhl další důležitou součást převodního systému a to atrio-ventrikulární (AV) uzel. Z tohoto uzlu se po určitém časovém odstupu převede přes Hissův svazek a následně Purkyňova vlákna na pravou a levou srdeční komoru. Tím je jeden cyklus elektrické aktivity srdce ukončen. U srdeční činnosti bez arytmii je tento proces pravidelný a je ovlivněn pouze změnou požadavků organismu jako je např. fyzická činnost, odpočinek, strach či jiný duševní stav.

Při arytmií, kterou nazýváme síňová fibrilace, elektrické impulzy vznikají nepravidelně v celé řadě tzv. spouštěcích míst, která jsou lokalizována jak v pravé, tak i levé síni a jsou příčinou nepravidelného převodu impulzu na srdeční komory a tím i celkové nepravidelnosti mechanické práce srdce. Tato situace je patrna na obr. 2. Frekvence síňové fibrilace se pohybuje v rozsahu od 300 do 600 úderů za minutu. Vzhledem k tomu, že AV uzel je limitován určitým počtem převedených impulzů, komorová frekvence většinou kolísá mezi 50 až 150 údery za minutu.

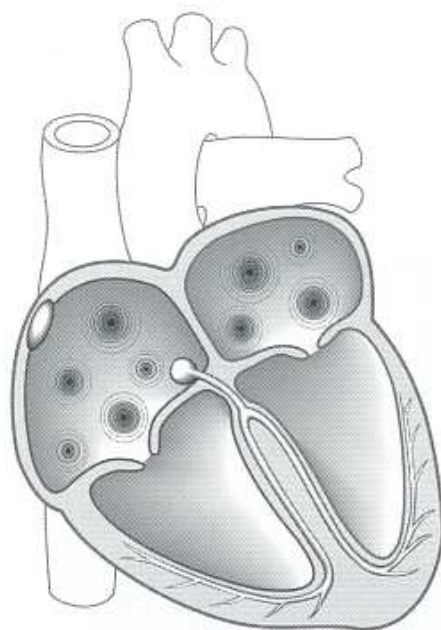
Za trvání síňové fibrilace je mechanická účinnost srdce snížena o 20 až 30%. Tato snížená účinnost se projevuje symptomy, jako jsou srdeční palpitace, bušení, ztráta energie, pocit únavy, slabost, diskomfort v oblasti hrudníku, které se projevují bolestí nebo tlakem na hrudi. Diagnostika síňové fibrilace se nejčastěji provádí z 12-ti svodového elektrokardiogramu nebo v případě, že arytmie nejsou příliš časté, využíváme například event recorder, který může pacient sám aktivovat v okamžiku výše uvedených symptomů. Příklady normální křivky EKG a křivky se zaznamenanou arytmií můžeme vidět na obr. 3 a obr. 4.



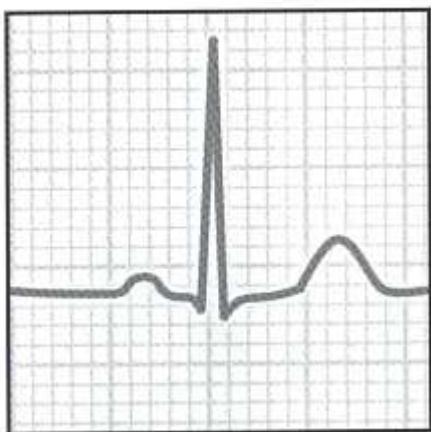
Obr. 1 Převodní systém zdravého srdce (6)

Fibrilace síní (FS) je nejčastější klinicky významnou arytmií. Její výskyt v dospělé populaci se dříve udával 0,4%, dnes se uvádí spíše 0,95%. Jak vyplývá z epidemiologických dat, tato arytmie je nejčastější u starších nemocných, zejména u nemocných s hypertenzí, chlopenní vadou, nebo ischemickou chorobou srdeční (1). V dětství je arytmie výjimečná, kromě případů dětí po srdečních operacích. Později výskyt kolísá od 0,1% u osob mladších než 55 let až do 3,8% u osob starších 60 let a 9,0% u osob starších 80 let, přičemž 85% pacientů s FS je starších 65 let. Podle věku se liší i projevy FS: u mladších pacientů se vyskytují spíše ojedinělé paroxysmy FS, s rostoucím věkem četnost atak stoupá či arytmie přechází v permanentní. U mužů je prevalence FS vyšší než u žen (1,1% oproti 0,8%).

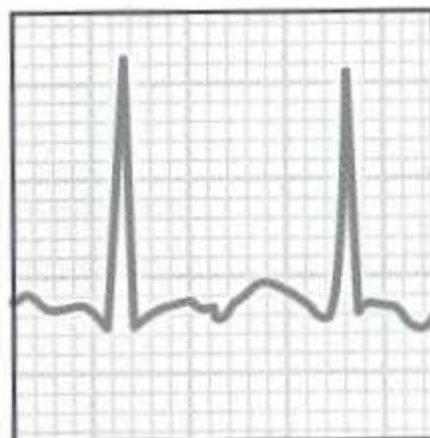
V průmyslových zemích populace nemocných s ischemickou chorobou srdeční narůstá, s pokroky v terapii těchto nemocných se zvyšuje počet jedinců se srdečním selháním. Očekává se tedy i nárůst fibrilace síní, která je u takových nemocných častá. U pacientů se srdečním selháním je výskyt FS závislý na jeho stupni: kolísá přibližně od 5% při NYHA I až téměř k 50% při NYHA IV (2). Většina dat, které jsou v současnosti k dispozici, se týkají evropských a severoamerických jedinců bílé rasy. Epidemiologie této arytmie se v jiných oblastech a u jiných etnik může lišit.



Obr. 2 Elektrická aktivace při síňové fibrilaci (6)



Obr. 3 Fyziologické EKG (6)



Obr. 4 EKG při FS (6)

Poměrně častý je současný výskyt s flutterem síní, makroreentry síňovou arytmií. Obě arytmie se mohou u téhož nemocného střídát či přecházet jedna v druhou.

1.2 Prevalence a incidence

Prevalence fibrilace síní stoupá s věkem, z výsledků studií vyplývá (3,4,5), že v populaci nad 70 let se pohybuje okolo 5%. U mladších má vyšší prevalenci mezi muži, v kohortě starších pacientů se poměr mění ve prospěch žen (3).

Prevalence v posledních dekáдах stoupá. Tento stoupající trend byl potvrzen opakovaně publikovanými daty (6). Otázkou zůstává, zda se jedná skutečně o trend, nebo je-li tato stoupající prevalence výsledkem lepší diagnostiky této arytmie. Dalším faktorem pak může být stoupající věk populace. Vzhledem k tomu, že se předpokládá, že průměrné přežití a tím i průměrný věk populace bude nadále stoupat, je pravděpodobné, že bude stoupat i prevalence fibrilace síní. Tato arytmie je tedy vážným epidemiologickým problémem již nyní a význam tohoto problému bude ještě větší. Fibrilace síní vyžaduje časté hospitalizace a její přítomnost je spojena s významnou nemocností a úmrtností (9). Výskyt cévní mozkové ischemické příhody, která je nejčastější příčinou nemoci u těchto nemocných je asi 5% ročně, což je až sedmkrát častěji než u jedinců se sinusovým rytmem. Pokud je současně přítomna chlopenní vada, pak je výskyt této komplikace dokonce sedmnáckrát vyšší. Úmrtnost pacientů s FS je dvojnásobná v porovnání s nemocnými se sinusovým rytmem.

1.3 Klasifikace fibrilace síní

Již v minulosti vznikala potřeba odlišit od sebe jednotlivé typy fibrilace síní. Existuje řada klasifikací fibrilace síní, podle etiologie, podle rychlosti komorové odpovědi, podle morfologie fibrilačních vln apod. Nejvhodnější klasifikace FS by měla být jednoduchá a měla by mít klinický význam. V poslední době je nejvíce přijímaná klasifikace podle délky trvání. Tato klasifikace je vhodná i z hlediska klinického významu, neboť je známo, že právě délka trvání arytmie je nejdůležitější při vzniku remodelace síňového myokardu.

Současná, nejčastěji používaná klasifikace FS (tabulka č.1) rozlišuje první dokumentovanou ataku, nehledě na to, zda je asymptomatická nebo symptomatická. Může jít o jedinou epizodu nebo může arytmie v budoucnu recidivovat. Další formou je paroxysmální FS, která spontánně terminuje do 7 dní, přičemž většina takto definovaných paroxysmů netrvá déle než 48 hodin. Již chroničtější formou je persistující FS, trvající déle než 7 dní, u které

vzniká nutnost jejího ukončení kardioverzí, ať již chemickou nebo elektrickou. Poslední formou FS, chronickou, je permanentní FS, u které je kardioverze neúspěšná nebo po nastolení sinusového rytmu dojde k návratu FS do 24 hodin od kardioverze. Nejnověji publikovaná data ukazují, že paroxysmální forma fibrilace síní je nejčastější, vyskytuje se až v 62% případů (7).

Při posuzování FS u individuálního nemocného však musíme přihlídnout k řadě jiných faktorů: k symptomatologii, hemodynamice arytmie, trvání FS či frekvenci záchvatů, věku pacienta, přítomnosti a závažnosti kardiálního onemocnění a dalším přidruženým chorobám.

Tabulka č.1 Klasifikace fibrilace síní

Fibrilace síní	
První dokumentovaná	první zachycená epizoda
Paroxysmální	ataky končící spontánně (většinou do 48 hodin)
Perzistující	ataky končící až po intervenci (medikamentózní nebo kardioverzi)
Permanentní	arytmie dlouhodobě přetrvává i přes opakované pokusy o kardioverzi

1.4 Komplikace fibrilace síní

Nejzávažnější komplikací fibrilace síní je tromboembolická nemoc. Toto riziko je u neléčených pacientů 3-7%. V posledním desetiletí dvacátého století bylo publikováno celkem 16 randomizovaných multicentrických preventivních klinických studií (např. ASFAK, SPAF I, SPAF II, BAATAF, SPINAF), které prokazovaly jednoznačný prospěch z antikoagulační léčby u nemocných s FS. Při antikoagulační terapii došlo k relativnímu snížení rizika embolické mozkové příhody o 62%, zatímco antiagregace aspirinem vedla k relativnímu snížení rizika jen o 22% oproti placebo (30).

Pokud je antikoagulační léčba pečlivě kontrolována a INR je udržován v terapeutickém rozmezí 2-3, pak není riziko závažného krvácení zvýšeno (31). Zvlášť

pečlivá antikoagulační léčba je nutná u nemocných se současně se vyskytující chlopenní vadou, zejména mitrální stenózou, kde je riziko tromboembolické příhody vyšší. Stejně tak zvyšuje riziko současná hypertenzní nemoc, thyreotoxikóza, diabetes mellitus, anamnéza srdečního selhání. Z echokardiografických parametrů je závažné především zvětšení síní, dilatace a těžká, nebo středně závažná dysfunkce levé komory srdeční. Při stratifikaci rizika je třeba přihlédnout k věku a pohlaví (8). Další významnou komplikací je vznik tzv. tachykardické kardiomyopatie, která vzniká u neléčené formy a je způsobena rychlou komorovou frekvencí.

1.5 Terapie

Snaha o medikamentózní terapii nebyla v minulosti příliš úspěšná. Stále se hledají nové preparáty, které by ovlivnily jen síňovou svalovinu, bez vlivu na komorový myokard, které by neměly vedlejší účinky a nebyly proarytmogenní. Zároveň se hledají způsoby nefarmakologické léčby. Tyto nefarmakologické postupy v současné době dominují, protože farmaka selhávají a mají nepravidelný efekt. Do kategorie nefarmakologické léčby zařazujeme kardiostimulační metody a ablační techniky.

1.5.1 Medikamentózní terapie

Jak jsem již uvedl, klíčovým momentem pro udržení fibrilace síní je zkrácení refrakterní periody v síňovém myokardu. Proto při volbě antiarytmika jsou preferovány léky, které prodlužují efektivní refrakterní periodu. V této indikaci bývají používány hlavně blokátory sodíkového kanálu. Paroxysmální forma fibrilace síní bývá zahájena tzv. spouštěči (triggry), tedy ektopickou aktivitou. Cílem medikamentózní terapie je v těchto případech inhibice činnosti takového ektopického centra, aby byla snížena iniciace fibrilace síní. Elektrické remodelaci síňového myokardu, která souvisí s vyšším vtokem kalciových iontů dovnitř buňky lze zčásti předcházet podáváním blokátorů kalciového kanálu, resp. verapamilu. V současné době ale neexistuje lék, který by spolehlivě utlumil ektopickou

aktivitu, bývají používány léky I C třídy (klasifikace Vaughan Williams), nebo léky spadající do III třídy této klasifikace.

Podle Doporučení American College of Cardiology/American Heart Association/European Society of Cardiology je podávání léku v terapii fibrilace síní určeno pouze symptomatickým nemocným, kteří vykazují zhoršení kvality života v důsledku arytmie (10). U nemocných, u kterých arytmie nevede k výrazným symptomům, není podávání léků v prevenci vzniku, či ukončení epizody arytmie doporučováno. U poměrně velkého procenta nemocných přes podávání antiarytmické terapie dochází k návratnosti arytmie. Bylo to prokázáno v mnoha studiích s antiarytmickými léky, s 40-60% nemocných, u kterých antiarytmická terapie nedokázala zabránit recidivám FS, a to ani v případě, že byla podávána v kombinaci (11). Ačkoli je prokazatelný krátkodobý efekt některých léků, v dlouhodobém sledování nadpoloviční počet nemocných trpí recidivami arytmie (12).

1.5.2 Nefarmakologická léčba - kardiostimulace

Protože medikamentózní terapie je omezena poměrně vysokým procentem neefektivity, proarytmogenním nebezpečím u nemocných se strukturálním onemocněním srdce, orgánovou toxicitou, stále se hledá alternativa medikamentózní terapie. Nefarmakologická léčba prodělala v průběhu doby také bouřlivý vývoj. Nové poznatky o patofyziologii fibrilace síní zároveň přinášejí nadšení pro vývoj potenciálně kurativních nefarmakologických přístupů. Použití kardiostimulátorů v terapii fibrilace síní v sobě zahrnuje trvalou kardiostimulaci pro syndrom chorého sinu s fibrilací síní, provázený bradykardií, dále historicky i v současné době je trvalá kardiostimulace používána po neselektivní RF ablaci AV uzlu pro fibrilaci síní s rychlou odpovědí komor. V neposlední řadě byly vyvinuty kardiostimulační systémy umožňující síňovou stimulaci v preventivních režimech, které mají za cíl zabránění vzniku fibrilace síní potlačením triggrů nebo mohou ukončit paroxysmus této arytmie tzv. antiachykdickou stimulací, nebo-li stimulací vyšší frekvencí, než je frekvence tachykardie (overdrive stimulace).

1.5.2.1 *Potlačení spouštěčů (triggrů)*

Přesná role předčasných síňových stahů ve spuštění fibrilace síní není známa, stále je předmětem diskuse, zda v etiologii každé paroxysmální formy FS hrají stejně důležitou roli. V několika pracích bylo publikováno, že síňové extrasystoly, které vedou ke spuštění fibrilace síní, mají kratší vazebný interval, než ty, které ke spuštění této arytmie nevedou. Také bylo dokumentováno, že pokud jsou tyto takzvané spouštěče posuzovány podle místa vzniku, pocházejí přednostně z oblasti zadní stěny levé síně, konkrétně z oblasti plicních žil (13). Tyto poznatky vedly k názoru, že postačí vnutit trvale síňovou stimulaci, která bude lehce převyšovat základní srdeční frekvenci, aby byly potlačeny tyto předčasné stahy s krátkým vazebným intervalem. Menší publikovaná studie prokázala úspěch u 14 z 22 nemocných, tedy jen málo nad 50% (14). Výsledky jiné menší studie ale naopak neprokázaly jednoznačný efekt overdrive stimulace u nemocných s paroxysmální formou fibrilace síní. (15).

V dalším průběhu vývoje byly zavedeny do praxe stimulatory umožňující uplatnění speciálních algoritmů, tzv. preventivní stimulace. Jedním z nejjednodušších a také prvním zavedeným algoritmem byl tzv. dynamická overdrive stimulace (AF Suppression™, St. Jude Medical), tedy kontinuální detekce vlastní síňové frekvence a stimulace vždy o něco rychleji tak, aby se nemohly uplatňovat předčasné stahy. Tento systém minimalizuje pauzy následující po ektopickém stahu, potlačuje tyto ektopické stahy a minimalizuje disperzi refrakterity v síni. V jiném systému byl aplikován algoritmus, který neustále monitoroval vlastní spontánní aktivitu, dovoloval přesně detekovat stah po stahu a umožňoval velmi přesnou stimulaci v kratším P-P intervalu (Atrial Preference Pacing algorithm™, Medtronic). Tentýž zdroj uvedl do praxe AF Suppression algorithm™, který sledoval dynamické změny ve spontánním rytmu. Reakcí na tyto změny bylo možno zachovat cirkadiální fyziologické změny rytmu. Dále byly různé preventivní algoritmy kombinovány a použity v jediném přístroji (např AT 500, Medtronic), který slučoval tři samostatně programovatelné preventivní algoritmy. Studie ATTEST byla retrospektivní studie, která zkoumala efekt těchto specifických preventivních funkcí. Neprokázala však snížení počtu paroxysmů, resp. celkové zátěže fibrilací síní u nemocných, kteří měli aktivovány preventivní funkce oproti skupině bez aktivace.

Dalším algoritmem, který byl uveden do klinické praxe byl Post-Mode Switch Overdrive Pacing (PMOP), který napomáhal stabilizaci rytmu po spontánní verzi na sinusový rytmus po paroxysmu fibrilace síní. Bylo však zjištěno, že tato funkce je spíše proarytmogenní , v některých případech zvyšuje počet časných návratů fibrilace síní.

1.5.2.2 Potlačení fibrilace síní stimulací

Z patofyziologických poznatků vyplynulo, že zatímco v terapii pravidelných tachyarytmií (jako například u flutteru síní), s dlouhým časovým intervalem ve kterém je tkáň myokardu schopná podráždění je ATP účinná, není tato metoda v terapii fibrilace síní uspokojivá. Jen skutečnost, že fibrilace síní se často vyskytuje s flutterem síní a obě arytmie se mohou střídát, vede k názoru, že tato terapie může být užitečná i v prevenci vzniku FS. Ve studiích, které se zabývaly se touto problematikou, lze z analýz pamětí přístrojů vyčíst podstatně větší účinnost ATP na arytmie s delší CL (65 % úspěšnost pro CL >320 ms oproti 29% úspěšnosti při < CL 190 ms) (16). Také další studie prokazovaly větší účinnost ATP na arytmie, které byly hodnocené přístrojem jako flutter síní, než ty epizody, které byly (nejčastěji dle frekvenčního kritéria) vyhodnoceny jako fibrilace síní.

Nefarmakologická léčba fibrilace síní pomocí implantovaných přístrojů s využitím preventivní stimulace poskytuje mnoho možností jak ovlivnit návratnost FS a jejího ukončení. Všechny studie zabývající se těmito možnostmi byly ale u malých souborů nemocných a výsledky nebyly zcela přesvědčivé.

1.5.3 Radiofrekvenční katetrizační ablace

Při katetrizačních výkonech lze použít několik zdrojů energie, jako je ultrazvuk, radiofrekvenční energie, mikrovlnná energie nebo cryodestrukce. Nejdokonaleji vyvinuté prostředky (katetry, zdroje) používají v současné době radiofrekvenční energii a cryodestrukci.

1.5.3.1 Vývoj, strategie a ablační postupy při řešení síňových arytmí

Arytmogenní tkáň v plicních žilách, kde byla objevena abnormální automacie má embryonální původ ze sinus venosus, z něhož vzniká převodní systém. A. Natale prokázal existenci specializovaných buněk v plicních žilách, které mají schopnost spontánní depolarizace. V jiných pracích bylo poukázáno na význam přítomnosti mikroentry pocházející z plicních žil (17). První zmínky o možné roli plicních žil ve spouštění fibrilace síní pocházejí z chirurgických poznatků (18). M. Haissaguerre, průkopník radiofrekvenční ablace a jeho spolupracovníci jako první studovali mechanismus spontánního vzniku fibrilace síní a již v roce 1997 publikovali práci, ve které detekovali plicní žíly jako spouštěče paroxysmální formy FS (19,20). RF ablace těchto inicializačních spouštěčů může zabránit extrasystolám, salvám extrasystol a tím i fokálně spouštěné fibrilaci síní. Podle těchto poznatků byla tedy v prvním stadiu ablace v plicních žilách uskutečněna přímo v místě identifikovaných fokusů v plicních žilách, tedy v oblasti přítomnosti vysokofrekvenčního potenciálu, který předchází potenciálu v síních. Bylo třeba mapovat vícepolárními katetry a používaly se provokační manévry k zvýraznění těchto spontánních ektopických aktivit. Často bylo obtížné rozlišit takový fokus od vzdáleného potenciálu (20,21).

Tyto počáteční výkony sice vedly k dobrým primárním výsledkům, ale často bylo nutno výkon opakovat, docházelo k častým recidivám arytmie.

Zavedení cirkulárního multielektrodového katetru do klinické praxe (Lasso™, Cordis, Spiral-SC™ Diag) napomohlo detailnějšímu mapování ústí plicních žil a tak identifikaci nejčasněji aktivovaných oblastí myokardu. Postupně se ablační strategie posunovala k aplikacím ablacím vně vústění plicních žil, vždy tam kde byl identifikován přechod na myokard síní.

Alternativní přístup k izolaci plicních žil je aplikace cirkumferentních lézí, což umožňují dnešní 3D zobrazovací systémy. Zásadně existují dvě rozdílné techniky: jednou je aplikace kontinuální radiofrekvenční energie vně od vústění plicních žil, takzvaná extraostiólní cirkumferentní léze. C. Pappone (Milán) již u prvního souboru nemocných řešených touto metodou prokazoval až 80% (i vyšší) úspěšnost v dlouhodobém sledování, bez antiarytmické terapie (23). Druhou možností představují techniky používající balón, který obkružuje vústění plicních žil, jak publikoval A. Natale, který použil balón s možností aplikace ultrazvuku (24). Udává sice nižší dlouhodobou úspěšnost (60%), ale je nutno vzít v potaz rozdílné metodiky sledování.

1.5.3.2 Ektopická ložiska mimo plicní žíly

Je třeba vzít v úvahu, že ektopická ložiska jsou prokazována i mimo plicní žíly a stávají se tak zdrojem pro spouštění fibrilace síní. Stejně jako fokusy v plicních žilách pocházejí embryonálně z převodního systému (resp. mají stejný původ jako převodní systém), i další struktury v sobě mohou obsahovat tuto tkáň schopnou spontánní automacie. Takovéto okrsky jsou nalézány v horní duté žíle (zejména při jejím vústění do pravé síně), nebo v oblasti ligamentum Marshall (vazivový pruh mezi levou horní a levou dolní plicní žílou). Tato struktura má schopnost fokální automatické aktivity, kterou lze prokázat po podání izoprenalinu (25). Obdobná tkáň byla nalezena v experimentu a později prokázána i elektrofyziologickými studiemi v oblasti vústění koronárního sinu, na crista terminalis a v oblasti volné stěny levé síně. Z tohoto důvodu je v poslední době prováděna nejen izolace plicních žil, ale radiofrekvenční energie je aplikována také na jiná místa ve snaze ovlivnit tyto takzvané non-PV fokusy. Jsou tak aplikovány linie, které mají ukončit elektrické vedení.

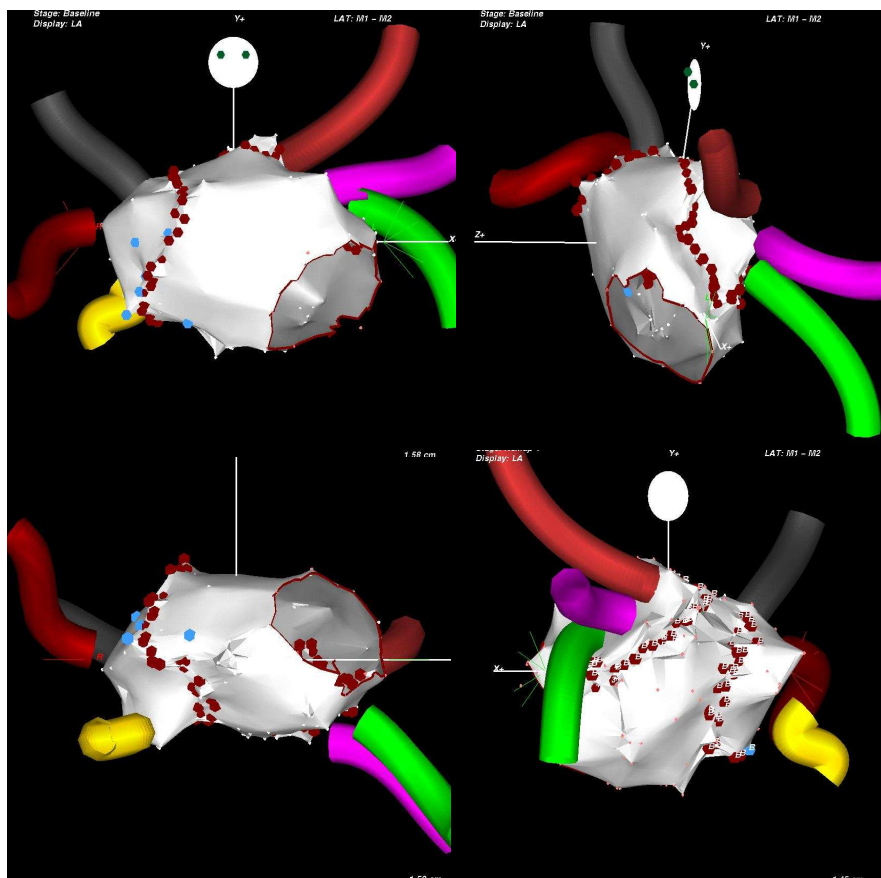
1.5.3.3 Katetrizační ablace substrátu u permanentní nebo persistující FS

V současné době se hledá přístup, jak odstranit nejen fokusy spouštějící paroxysmy FS, ale také způsob ovlivnění permanentní či persistující fibrilace síní, tedy chroničtější formy této arytmie. Právě tyto chroničtější formy jsou z hlediska možných komplikací jako je arytmogenní kardiomyopatie, nebo tromboembolie nejrizikovější. V těchto případech je modelován koncept modifikace substrátu FS.

Podle dostupných publikací se jeví izolace plicních žil u chronických forem fibrilace síní jako méně účinná, než je tomu v případě paroxysmálních forem. Přesto současné, hlavně chirurgické práce, zdůrazňují nepochybný pozitivní efekt, pokud je zároveň provedena modifikace substrátu arytmie, tedy provedení linií spojující dolní plicní žíly s mitrálním anulem, nebo další, individuálně vedené linie (26, 27). M. Haissaguerre se svými spolupracovníky popsal výsledky výkonů u kterých byly linie aplikované na mitrální istmus, trikuspidální istmus, dále v oblasti zadní stěny levé síně, strop levé síně (spojující obě horní plicní žíly). Obr. 5 uvádí příklad ablace plicních žil v různých projekcích. Stále není jednoznačný efekt takto aplikovaných linií, v některých případech – například pokud není

linie kompletní – může její provedení vést k vzniku levostranného flutteru síní a být i tedy i proarytmogenní (28, 29).

Existují data z poměrně početných prací, která informují o výsledcích radiofrekvenční ablace resp. izolace plicních žil. I asymptomatická fibrilace síní je z hlediska závažnosti možných tromboembolických komplikací stejně nebezpečná jako paroxysmy, které nemocný vnímá. Do současnosti se úspěšnost jednotlivých ablačních přístupů mohla hodnotit pouze na základě 12-svodového EKG nebo opakovanou holterovskou monitorací. Neméně důležité je hodnocení ataků síňových arytmií při srovnávání jednotlivých ablačních technologií. Možnosti dlouhodobého sledování srdečních arytmií, které se v současné době dostávají do klinické praxe uvádím v kapitole 4.



Obr. 5 3D znázornění levé síně s vyústěním plicních žil a ablační linie
(znázornění z různých projekcí)

2 SRDEČNÍ IONTOVÉ PROUDY A GENESE ARYTMÍÍ NA BUNĚČNÉ ÚROVNI

Cílem tohoto přehledu je podat popis iontových kanálů a elektrogenních transportérů přítomných v srdci (kap. 2.1) a přenést tato zjištění z hlediska modulace elektrických vlastností na buněčnou a multicelulární úroveň a analyzovat jejich úlohu v genesi srdečních arytmíí (kap. 2.2).

V kapitole 2.1 uvádím popis kinetiky aktivace – inaktivace procesů prostupnosti kanálů a nosičů a dále je v této kapitole stručně probrána jejich úloha v genesi elektrické aktivity. Tato kapitola je rozdělena do podkapitol, ve kterých jsou popsány kanály a transportéry v plazmatické membráně, ve zkřížení mezer a v nitrobuněčných organelách (sarkoplazmatické retikulum a mitochondrie).

Kapitola 2.2 je rozdělena do třech oddílů, které se zabývají hlavními mechanismy vzniku arytmíí. První oddíl je věnován automacii v SA uzlu, druhý automacii mimo SA uzel. Třetí oddíl je pak zaměřen na spouštěnou aktivitu a popisuje mechanismus RE-ENTRY okruhů.

2.1 Iontové kanály a transportéry

2.1.1 Iontové kanály a transportéry v plazmatické membráně

2.1.1.1 Na^+ kanály

V buňkách s největší vzrušivostí Na^+ proud zodpovídá za vedení akčního potenciálu. V srdci je hustota kanálů nízká v buňkách sinoatriálního uzlu (SAU), síňokomorového uzlu (SKU) a nejvyšší v Purkyňových buňkách. Na^+ kanál pracuje podle elektrického napětí a vykazuje aktivaci a inaktivaci.

A) AKTIVACE A INAKTIVACE. Je-li srdeční buňka depolarizovaná, vytváří se vnitřní proud, který se rychle zvyšuje a poté klesá mnohem pomaleji. Vzestup je esovitý nebo exponenciální (178). Doba do dosažení vrcholu se zkracuje při depolarizaci (175). Pokles

makroskopického proudu nebo jeho inaktivace jsou nejlépe popsány jako součet dvou exponenciál. Časová konstanta první komponenty se stává kratší při depolarizaci.

Vztah vrcholového proudu a napětí lze přenést do vztahu vodivosti a napětí, z kterého lze vytvořit aktivační křivku. Vrcholový proud je závislý na napětí a roste u negativnějších udržovacích potenciálů. Tento vztah se vysvětluje jako změna dostupnosti kanálu, který se aktivuje. Oba vztahy, aktivaci a inaktivaci, lze popsat pomocí Boltzmannovy distribuce se sklony ~ 6 mV. Střední body napětí u mnohobuněčných preparátů jsou -30 mV pro aktivační proces a -85 mV pro inaktivační proces.

Vlastnosti časového průběhu a ustáleného stavu proudu se vysvětlují jako dva procesy závislé na napětí, a to aktivace a inaktivace, které jsou na sobě nezávislé (125). Otvírání a uzavírání kanálů závisí na pohybu vrátek kanálů, a tato hypotéza tak předpovídá existenci vrátkového proudu. V srdečních buňkách se tento vrátkový proud měří pro aktivační proces, avšak nikoliv pro inaktivační proces, jako kdyby inaktivace byla nezávislá na napětí. Aktivační vrátkový proud se však v průběhu inaktivace zmenšuje, což ukazuje na určitý stupeň vazby mezi těmito dvěma procesy (110). V závislosti na typu buňky je různá vazba mezi aktivací a inaktivací. Vazba je silná v buňkách neuroblastomu (32), v nichž aktivace má různý nástup a po ní následuje rychle inaktivace. V srdečních buňkách je vazba slabá a k otvírání dochází vždy na začátku depolarizačního pulzu (aktivace je rychlá) a jejich trvání je různé (inaktivace je pomalejší a proměnlivá) (43).

Zotavení z inaktivace je za normálních podmínek velmi rychlé (1 – 10 ms), přičemž rychlost se zvyšuje po hyperpolarizaci. Po dlouhé depolarizaci může být zotavení velmi pomalé (v řádu sekund). Tento proces se nazývá pomalá inaktivace (57). Existence tohoto fenoménu může být významná pro pochopení změn, ke kterým dochází během ischemie a po ní, kdy jsou buňky vystaveny dlouhé depolarizaci.

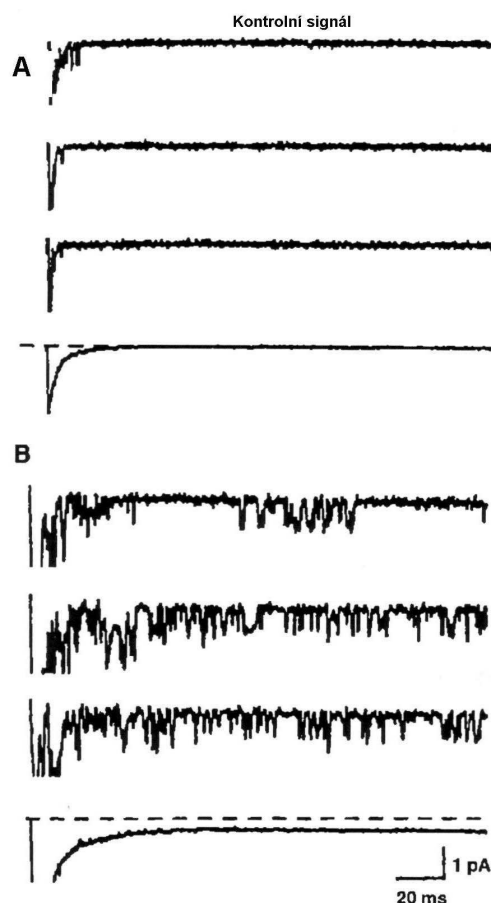
V srdečních buňkách je rozpad sodíkového proudu za normálních okolností velmi rychlý. V omezeném rozsahu potenciálů, kdy se aktivace a inaktivace překrývají, lze zaznamenat malý neinaktivační proud nebo okenní proud, což je způsobeno koloběhem kanálů mezi klidovým, aktivovaným a inaktivovaným stavem (36). To není způsobeno abnormálním chováním kanálu, ale za patologických podmínek se může překrývání zvyšovat, což vede ke zvýšení proudu.

Pomalou se inaktivující Na^+ proud, který představuje malé procento celkového sodíkového proudu, lze zaznamenat v Purkyňových vláknech u králíků a psů v buňkách srdeční komory u potkanů a v exprimovaných Na^+ kanálech u lidí (205), a to v celé šíři potenciálů. U potkana je Na^+ proud více vyjádřený během hypoxie (140) (obr. 6). Část tohoto proudu se neinaktivuje

úplně. V porovnání s rychlou složkou Na^+ proudu se aktivace posouvá směrem k hyperpolarizaci. To může vést k více vyjádřenému překrytí aktivace a inaktivace, což pak tvoří trvalou složku ustáleného stavu. Proud se deaktivuje ihned na hyperpolarizaci.

Obr. 6 Hypoxií zvýšená trvalá aktivita Na^+ kanálu (140)

A kontrolní signál
B během hypoxie



Po vystavení membránových záplat lysofosfatidylcholinu (53) lze zaznamenat trvalý proud v rozmezí napětí od -150 do 0 mV. Je to dáno pravděpodobně modulací jeho rychlé složky. Proud se nedeaktivuje po hyperpolarizaci a je významný při klidovém potenciálu. Může hrát významnou úlohu jako vnitřní únikový proud, což vede ke ztrátě K^+ během ischemie.

Na molekulární úrovni se kanál skládá z α -podjednotky (260 kDa) a dvou β -podjednotek (každá 36 a 33 kDa) (89). α -podjednotka, která je dostatečná pro kanálovou aktivitu, se skládá ze 6 transmembránových segmentů, které se 4x opakují, a tetrametrické struktury. Dvě β -podjednotky mají modulátorovou úlohu urychlují inaktivaci a snižují blokádu lokálními anestetiky (174).

Prostupnost závisí na hydrofilní části α -podjednotky mezi transmembranózními segmenty 5 a 6. Selektivita pro Na^+ je způsobená specifickými aminokyselinami v této oblasti a mutace pouze dvou kritických reziduí aminokyselin postačuje na propůjčení vlastností permeability, které jsou podobné Ca^{2+} kanálu.

2.1.1.2 Ca^{2+} kanály

V plazmatické membráně srdečních buněk byly popsány různé typy Ca^{2+} - permeabilních kanálů: kanály L-typu a T-typu, které jsou aktivovány napětím, a zbytkový kanál (184). Lze je rozlišit na základě jejich charakteristických elektrofyziologických a farmakologických vlastností. Hustota kanálů T-typu a L-typu se liší v různých částech srdce. Poměr kanálů T-typu v porovnání s L-typem je nejvyšší v Purkyňových a sinoatriálních buňkách, kde dosahuje hodnotu 0,2 – 0,6 a nižší v síňových a komorových buňkách, kde je tento poměr pouze 0,015 – 0,025 (41).

A) ZBYTKOVÉ Ca^{2+} KANÁLY. Kanály prostupné pro kalcium lze zjistit po inkorporaci proteinových frakcí plazmatické membrány do dvojvrstev (207). Pro aktivaci nejsou potřebné žádné napěťové kroky a je možné zaznamenat spontánní jednokanálovou aktivitu s dlouhou dobou otvírání > 100 ms při negativních hodnotách E_m -90 mV. Kanály nejsou blokovány dihydropyridiny (DHP) a nevykazují žádný útlum. Aktivita je rovněž zvýšená po vystavení volným kyslíkovým radikálům a metabolické inhibici (253). Tento kanál může být též zodpovědný za vstupní dráhu Ca^{2+} nezávislou na Na^+ , která byla popsána u trabekul potkana (165).

B) L-TYP Ca^{2+} KANÁLU. Přítok kalcia přes L-typ Ca^{2+} kanálu je příčinou růstu akčního potenciálu v SAN a AVN a má významnou úlohu při stanovení plató a konečného vzhledu akčního potenciálu „hrot – kopule“ v ostatních srdečních buňkách. Tento typ kalciových kanálů je dále zodpovědný za propojení mezi excitací a kontrakcí, indukuje uvolnění Ca^{2+} ze sarkoplazmatického retikula a reguluje množství nitrobuněčného kalcia. Tímto způsobem pak určuje aktivitu celé řady mitochondriálních a cytoplazmatických enzymů citlivých na Ca^{2+} .

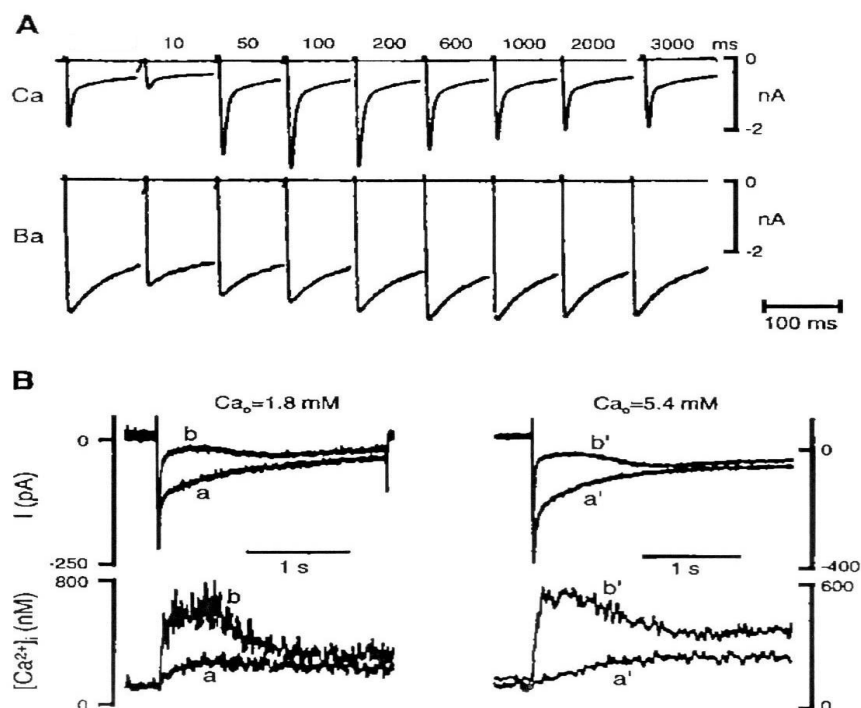
I) Kinetika A) Aktivace a inaktivace. Aktivační práh je kolem -25 mV a polovičního maxima aktivace je u většiny buněk dosaženo přibližně při -15 mV (184) a při pozitivnějších potenciálech (-3 mV) v AV uzlu (111). Vzestup proudu má esovitý časový průběh, což ukazuje na základní mechanismus spočívající v procesu v několika krocích. Aktivaci předchází vrátkový proud (106). Hustota kanálů získaných z vrátkového proudu je mnohem

vyšší než hustota iontového proudu, což naznačuje, že i když jsou některé kanály vrátkové, nenesou proud.

Na jednokanálové úrovni se rozeznávají tři způsoby aktivity (115). U *způsobu 1* vykazuje kanál opakované krátké doby (< 1 ms) otvírání a uzavření (0,2 a 2 ms) za tvorby salv aktivity oddělených od ostatních salv delšími dobami uzavření. Řada po sobě jdoucích salv se může seskupit do shluku. Otvírání předchází různá čekací doba; ta klesá na více depolarizované hladiny a odpovídá rychlejší aktivaci a kratší době k dosažení vrcholových hodnot kalciového proudu. *Způsob 2* se vyskytuje za přítomnosti DHP agonistů (115) nebo po stimulaci β -receptorů a je charakterizován podstatně delší dobou otevření. *Způsob 3* je charakterizován úplným chyběním otvírání nebo přítomností pouze ojedinělých krátkých otvírání. Frekvence tohoto způsobu roste, pokud mu předchází depolarizace, a odpovídá výskytu inaktivace za ustáleného stavu.

L-typ Ca^{2+} proudu se inaktivuje dvěma způsoby: závislým na napětí a závislým na proudu. Existence dvou typů inaktivace vysvětluje komplexní časový průběh rozpadu proudu a přítomnost poklesu inaktivační křivky. K ustálenému stavu polovičního maxima inaktivace dochází při -20 až -30 mV. Křivka má minimum při ~ 0 mV a dále se opět zvyšuje na pozitivnější potenciály. Když je intracelulární Ca^{2+} dobře pufovan, toto zvyšování chybí a rozpad proudu během pulzu je mnohem pomalejší. Tato pozorování vedla k závěru, že inaktivace je závislá na napětí i na přítoku Ca^{2+} . Inaktivace vyvolaná Ca^{2+} je rychlejší proces, zatímco inaktivace vyvolaná napětím, je poněkud pomalejší. Aktivace a inaktivace se významně překrývají (okenní proud) (226).

B) Inaktivace proudu závislá na Ca^{2+} nebo proudu. Důkazy o intracelulární inaktivaci závislé na Ca^{2+} na celé buněčné úrovni jsou založeny na změně časové křivky rozpadu proudu se změnami v $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (184) (obr. 7 A a B). Rozpad je tím větší, čím je větší Ca^{2+} proud, a zpomaluje se za přítomnosti pufrů intracelulárního Ca^{2+} . Na jednokanálové úrovni (záplaty přiložené k buňce) prostupnost Ca^{2+} kanálem snižuje otevřenou pravděpodobnost následných opětovných otvírání kanálů a přesunuje vrátkový mód směrem k módu s dlouho přetrvávajícím uzavřeným stavem (130). Za inaktivační proces v prvních 50 ms depolarizace je zodpovědné zejména Ca^{2+} vznikající v sarkoplazmatickém retikulu (SR) (236) a na inaktivaci se později podílí i Ca^{2+} pronikající kalciovým kanálem (236). Ve skutečnosti je vzestup cytosolového Ca^{2+} uvolněním ze SR 10x větší než Ca^{2+} vstupující do buňky L-typem Ca^{2+} kanálů (231).



Obr. 7 **A:** Podpora během návratu Ca^{2+} proudu z předcházející inaktivace u komorových myocytů psa
B: Ca^{2+} indukovaná inaktivace; Ca^{2+} proud (horní křivky), Ca^{2+} přechodový proud (dolní křivky) (184)

C) T-TYP Ca^{2+} KANÁLU. Kalciový proud s krátkým trváním je aktivován při potenciálech, které mají větší negativitu, než je práh pro L-typ kalciového proudu (41). Proud je dobře vyjádřen v buňkách sinoatriálního uzlu, síňových buňkách, Purkyňových buňkách a nodálních buňkách. V embryonální kuřecí srdeční komoře představuje tento typ většinu Ca^{2+} proudu. Proud se nenachází v lidské srdeční síni (80,169) ani komoře (46). Kanál zřejmě hraje úlohu v řízení srdečního rytmu. Může rovněž interferovat se steroidogenezí, buněčnou proliferací a růstem srdce (114).

I) Aktivace, inaktivace a repriming. Aktivační práh je kolem -70 až -50 mV a maximální aktivaci lze pozorovat při -30 až -10 mV (243). Inaktivace je rychlá a úplná, časová konstanta je 309 ms při -50 mV a bývá kratší při více depolarizovaných hladinách. Toto chování je opačné než u kanálu L-typu, kde inaktivace je zpomalená při pozitivních potenciálech. Ustálený stav inaktivace je v rozsahu od -85 mV do -40 mV při polovičním maximu kolem -

60 mV a sklonu 5,5 mV. Vzestup $[Ca^{2+}]_i$ nevyvolává inaktivaci, spíš usnadňuje proud T-typu (33). Na jednokanálové úrovni je tento vzestup proudu charakterizován posunem k dlouhému otvírání (způsob 2 chování).

Repriming je závislý na napětí a zrychluje se při depolarizaci: 250 ms při -70 mV a 100 ms při -90 mV (62). Je tím pomalejší, čím je delší předchozí depolarizace, což ukazuje na existenci pomalé inaktivace (121).

2.1.1.3 K^+ kanály

Jelikož rovnovážný potenciál K^+ je spíše negativní, všechny srdeční K^+ kanály budou při aktivaci nést vnější proud, repolarizovat membránu během akčního potenciálu anebo stabilizovat membránu na hyperpolarizované úrovni. Mezi mnoha K^+ proudy lze rozlišit proudy aktivované napětím (I_{to} , I_{Kur} , I_{Kss} , I_{Kr} a I_{Ks}), proudy aktivované ligandami (I_{Kach} , I_{KATP} , I_{KNa} a I_{KAA}) a proud (vnitřní usměrňovač I_{K1}), který zřejmě nemá vrátka a lze ho nazývat proud. Za fyziologických okolností K^+ proudy aktivované napětím, I_{Kach} mezi ligandami aktivovanými proudy a I_{K1} hrají významnou úlohu v ovlivňování normálního akčního potenciálu.

A) VNĚJŠÍ KANÁLY S RYCHLOU AKTIVACÍ. Po depolarizaci se rychle aktivují tři různé K^+ proudy. Tyto proudy je možné rozlišit podle míry jejich inaktivace, která je relativně rychlá pro I_{to} , pomalá až velmi pomalá pro I_{Kur} neexistuje u I_{Kss} , a nazývají se rovněž zbytkový proud. V současné době nemáme žádné podrobné informace o I_{Kss} .

I) Rychlý přechodný vnější proud. Rychlý přechodný vnější proud (I_{to}) je přechodný vnější K^+ proud, který se rychle aktivuje a inaktivuje a je blokován milimolárními koncentracemi 4-aminopyrimidinu (4-AP). I_{to} je částečně zodpovědný za úvodní rychlou depolarizaci neboli fázi 1 během akčního potenciálu. Hustota I_{to} se u různých živočišných druhů liší a u určitých druhů se dokonce liší v různých částech srdce (55). Je více vyjádřena v síni a v Purkyňových vláknech a v komoře více v epikardiálních než v endokardiálních vláknech. Hustota I_{to} v srdci roste po narození (81), i když jeho přítomnost je rozdílná (67), což je pozorování, které pravděpodobně souvisí s patologickou downregulací.

A) Aktivace a inaktivace. Proud se aktivuje po depolarizaci. Hodnoty pro časový průběh a ustálený stav se u jednotlivých živočišných druhů a podle experimentálních podmínek liší. U králíka je časový průběh rychlý a monoexponenciální, u fretky je esovitý. Střední hodnoty napětí pro aktivaci za ustáleného stavu se pohybují od -10 mV u králíka až po +20 mV u fretky.

Po aktivaci se proud rozpadá. Časový průběh inaktivace byl popsán jako monoexponenciální nebo biexponenciální. Časové konstanty se opět různí, jsou však v řádu 25 – 75 ms a jsou nezávislé na napětí. Inaktivace za rovnovážného stavu vykazuje poloviční maximální potenciály mezi -50 a -15 mV (obr. 8A). Zotavení z inaktivace je velmi citlivé na napětí a je tím rychlejší, čím více je membrána hyperpolarizovaná.

Skutečné časové konstanty zotavení se u jednotlivých živočišných druhů liší. U většiny živočišných druhů včetně člověka (34) je zotavení rychlé s časovou konstantou v řádu 20 – 60 ms při -80 mV; frekvenční závislost je malá (obr. 8B). Zotavení je pomalé až velmi pomalé (časové konstanty 1 – 6 s) u srdeční síně i komory králíka, u Purkyňových vláken ovce a psa a u lidských subendokardiálních vláken. U těchto preparátů je proud znatelně snížen a zkrácení akčního potenciálu je významně menší při vyšších frekvencích (147).

II) I_{Kur} . Rychle aktivovaný K^+ proud s žádnou nebo jen velmi pomalou inaktivací je přítomen v různých preparátech srdce. Závislost na napětí pomalého inaktivačního procesu a citlivost na 4-AP je u jednotlivých živočišných druhů rozdílná, a proto lze dovodit, že proud neodpovídá jednomu konkrétnímu kanálu. Podle citlivosti na 4-AP lze proudy dále rozdělit na další dvě skupiny. V srdeční síni člověka (68), srdeční síni psa, buněčné kultuře srdeční komory novorozeného potkana a v srdeční komoře myši je I_{Kur} výjimečně citlivý na 4-AP a je zcela blokován při koncentracích 50 μ M nebo nižších. V srdeční síni a komoře potkana a v srdeční komoře člověka (190) není proud citlivý na 4-AP. V mnohých publikacích je popisován jako neinaktivující složka I_{to} .

A) Aktivace a inaktivace. U depolarizace na hladiny pozitivní k -40 mV zůstává u mnohých živočišných druhů vnější proud po odečtení rychle se inaktivujícího I_{to} : v srdeční síni potkana, v srdeční komoře potkana, v lidské srdeční síni (224) a v komoře (259), v srdeční komoře králíka a v srdeční komoře morčete a v srdeční síni psa. Tento proud je rychle aktivován a nevykazuje žádný nebo jen velmi pomalý rozpad. Proud se však inaktivuje. Inaktivace byla stanovena pomocí dlouhých (desítky sekund) testovacích pulzů. Střední inaktivační potenciál se různí: -70 mV a -90 mV (258) u potkana a podstatně méně negativní hodnoty -9 a -20 mV v lidské srdeční síni (88) (obr. 8A). Ve shodě s existencí pomalého zotavení z inaktivace je proud významně snížen při zvýšených frekvencích v srdeční komoře potkana, srdeční komoře králíka a v lidské srdeční síni (224) (obr. 8B).

Možným molekulárním kandidátem pro proud I_{Kur} v lidské srdeční síni je Kv1.5 protein (84). Tento protein je vysoce citlivý vůči 4-AP (254) a vykazuje omezenou a částečnou inaktivaci při pozitivních potenciálech, není však citlivý vůči TEA. Jednakanálová vodivost je 17 pS. Tento protein je přítomen v srdeční síni potkana a člověka, což bylo stanoveno pomocí

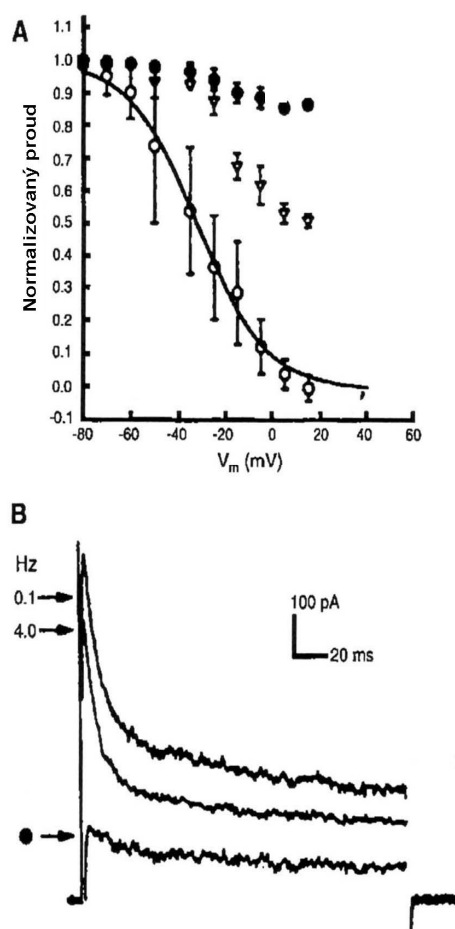
imunolokalizace. Ve vysokých koncentracích je přítomen ve vmezeřených discích. Kv3.1 byl navržen jako molekulární kandidát u psa (270).

B) PROUDY S OPOŽDĚNOU AKTIVACÍ: OPOŽDĚNÉ K^+ PROUDY. Na základě kinetiky, usměrňování, citlivosti na blokátory a modulační intracelulárními posly lze rozlišit dva opožděné K^+ proudy, I_{Kr} a I_{Ks} (63). I_{Kr} vykazuje aktivaci a inaktivaci, I_{Ks} pouze inaktivaci. Oba proudy jsou přítomny v lidské srdeční síni, lidské srdeční komoře (47), srdeční komoře morčete, srdeční síni morčete, srdeční komoře a síni psa, srdeční síni a komoře králíka, srdeční komoře novorozené myši a v srdeční komoře potkana.

1) *Rychlý opožděný K^+ proud, I_{Kr} .* A) Kinetika. I_{Kr} se rychle aktivuje na depolarizaci pozitivní vůči -40 mV, se středním napětím mezi -20 a -5 mV. Tato hodnota je nezávislá na $[K^+]_o$ (223). Časové konstanty aktivace se u jednotlivých živočišných druhů liší – u morčete jsou v řádu 175 ms při -30 mV a zkracují se při pozitivnějších nebo negativnějších potenciálech na zhruba 50 ms (838). V buňkách srdeční komory králíka jsou časové konstanty aktivace delší a činí 500 ms při -40 mV až méně než 100 ms při 0 mV (58). V porovnání s I_{Ks} jsou tyto časové konstanty kratší, což představuje zjištění, na jehož základě se tyto dva proudy rozlišují. Deaktivace neprobíhá stejným způsobem. Je rychlá u morčete, avšak mnohem pomalejší u králíka a u psa. U těchto preparátů se časový průběh skládá z nejméně dvou exponenciál, z nichž první je v řádu 0,5 s a druhá v řádu 5 – 10 s při -40 mV (98).

Na jednokanálové úrovni je průměrný otevírací čas v řádu 3 ms. Distribuce uzavíracího času je biexponenciální s hodnotami 0,6 a 22 ms (při -100 mV a 100 $[K^+]_o$) (223).

Při záznamu celé buňky časový průběh makroskopického proudu vykazuje saturaci beze známky druhotného poklesu. Proudům doznívání při hyperpolarizaci však předchází „háček“ a proud se přechodně zvyšuje, aby následně exponenciálním způsobem klesal (217, 223). Úvodní vzestup vnějšího proudu je interpretován (223) jako zotavení se z inaktivace, což je proces, o kterém se domníváme, že je rychlejší než proces deaktivace. Tato hypotéza znamená, že proud během depolarizace prodělává velmi rychle inaktivaci dříve, než dojde k jakékoliv podstatné aktivaci (obr. 9). To znamená, že inaktivace v ustáleném stavu sahá přes rozsah napětí, které je zcela pozitivní. Důsledkem toho je, že proud se koriguje směrem dovnitř. Inaktivace, která předchází aktivaci, byla rovněž prokázána v exprimovaném HERG kanálu (216).



Obr. 8 Inaktivace a frekvenční závislost I_{to} a I_{Kur} v síňových myocytech člověka (34)

Bylo prokázáno, že tento proces zodpovídá za I_{Kr} proud. Rychlé zotavení z inaktivace je důvodem pro vzestup počtu otvorů v Kr kanálu po repolarizaci v časné diastole v nodálních buňkách (136, 246).

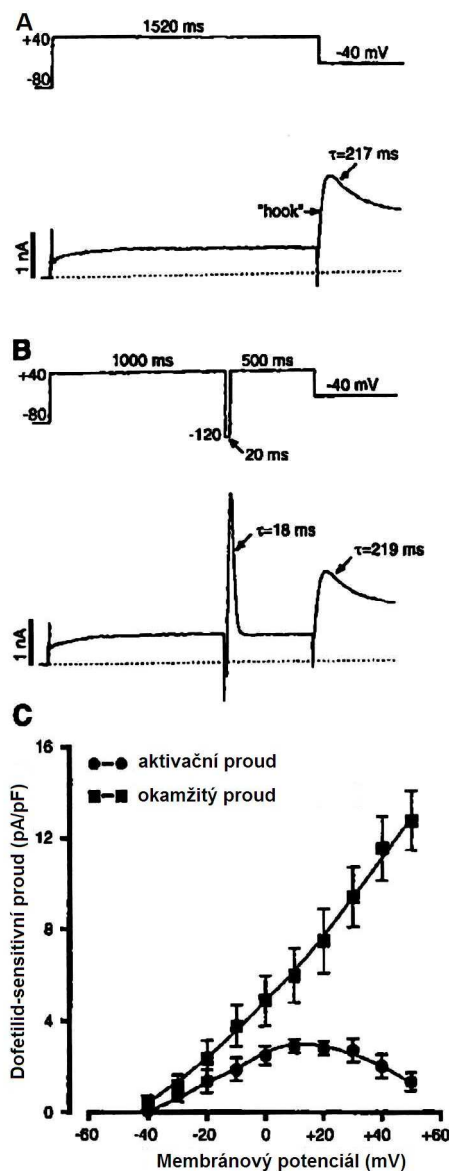
II) Pomalu aktivovaný I_{Kr} proud. A) Aktivace. I_{Kr} proud vykazuje pouze aktivaci, avšak nikoliv inaktivaci. K aktivaci dochází při širokém spektru depolarizačních potenciálů. Za řady experimentálních podmínek je obtížné dosáhnout nesporné saturace. Polovičně maximální hodnoty pozoruhodně kolísají od -13 mV (183) po 26 mV (39). Kinetika je pomalá a časový průběh vzestupu proudu je esovitý, zatímco rozpad koncových částí je monoexponenciální při napětí negativnějším než -50 mV a biexponenciální při pozitivnějších potenciálech (183). Deaktivace je pomalá u morčete, ale relativně rychlá u psa a králíka. Na jednokanálové úrovni je kinetika komplexní s mnohými otevřenými a uzavřenými časy (39).

Obr. 9 Rychlá inaktivace způsobena vnitřní rektifikací

A: Depolarizační pulz s amplitudou +40 ms odhalí malý aktivační proud. Následně byl pulz modifikován na hodnotu -40mV

B: Stejný protokol jako v bodě A s tím rozdílem, že krátký 20ms hyperpolarizační pulz o hodnotě -120mV byl začleněn do hlavního pulzu

C: Data z 8 experimentů (223)



C) VNITŘNÍ USMĚŘŇOVAČ. Vnitřní usměřňovač proudu (I_{K1}) je proud, který má za úlohu udržovat negativní klidový potenciál v srdečních buňkách. Hraje rovněž významnou úlohu při závěrečné rychlé depolarizaci během akčního potenciálu (225). Hustota I_{K1} je nejvyšší v Purkyňově a komorovém systému (128) a menší v síni (113). V sinoatriálním uzlu není I_{K1} přítomen (133). K výraznému vzestupu proudu dochází během vývoje z neonatálního do dospělého stavu (139).

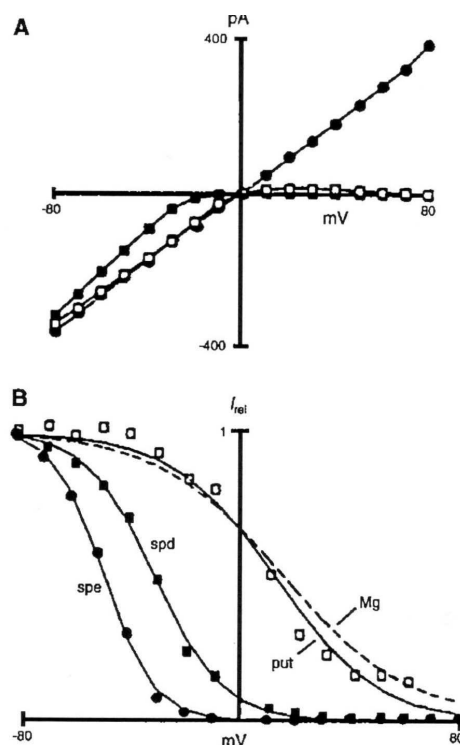
I) Aktivace – deaktivace: vnitřní usměrnění. I_{K1} proud, což je první proud K^+ , který je typický pro srdeční buňky, byl původně považován za zbytkový proud nezávislý na čase. Jeho výrazné vnitřní usměrnění vysvětlilo existenci dlouhého plateau u srdečního akčního potenciálu (60). Zlepšením záznamových technik se jednoznačně ukázalo, že I_{K1} vykazuje změny závislé na čase, které byly určeny jako aktivace, deaktivace a inaktivace (162). Po

hyperpolarizaci z udržovacího potenciálu ve výši -50 mV až -100 mV je kvaziokamžitý skok proudu následován exponenciálním vzestupem vnitřního proudu na ustálený stav. Při depolarizaci je možné pozorovat obrácené pořadí. Tento nálezn vedl k tvorbě hypotézy, že I_{K1} kanál se otevírá a uzavírá pomocí vnitřního vrátkového procesu, který se neliší od jiných kanálů operujících s napětím. Nedávno bylo zjištěno, že změny závislé na čase u proudu nebo vrátek se tvoří blokováním a odblokováním Mg^{2+} a polyaminů závislém na čase (180). Za velmi rychlou fázi zodpovídají ionty hořčíku a putrescinu a za pomalejší fázi zase zodpovídají ionty spermidinu a sperminu (172) (obr. 10). Rozdíl v rychlosti odpovídá rozdílu v pozitivním náboji (266). Blokáda je závislá na napětí, její elektrická vzdálenost je 0,3 pro $[Mg^{2+}]_i$; polyaminy zřejmě pronikají hlouběji do pórů (191). V době depolarizované hladiny se blok posouvá od rychlé Mg^{2+} blokády k pomalé polyaminové blokáde. Při hyperpolarizaci lze tento jev pozorovat jako vzestup pomalejší fáze aktivace (134). Tento nový koncept aktivace představovaný odblokováním je v souladu s informacemi získanými z molekulární struktury rodiny vnitřního usměrnění, ve které chybí napěťový senzor nebo segment S4. Molekula I_{K1} se skládá pouze ze dvou transmembranových segmentů s H5 sekvencí nebo pórem mezi nimi. I_{K1} kanál je tak možné považovat za zbytkový kanál a rozdíl mezi vrátky a propustností je méně zřejmý.

Obr. 10 Blok způsobený intracelulární pozitivně nabitou substancí určenou vnitřní rektifikací

A: Proudově-napěťový vztah pro 20ms testovací pulz různých potenciálů (o) a v přítomnosti 25 μ M (\square) a 1 μ M spermidinu (\blacksquare)

B: Normalizovaný proud jako funkce membránového potenciálu s 500 μ M spermine(spe), spermidine(spd) a putrescine(put) (172)



D) K^+ PROUDY AKTIVOVANÉ LIGANDAMI. 1) K^+ proud indukovaný acetylcholinem. Zpomalení srdeční frekvence je způsobeno aktivací specifického K^+ kanálu, a to K^+ proudu

indukovaného acetylcholinem (I_{KACH}) v sinoatriálním uzlu (260). U nižších obratlovců a ptáků je proud přítomen v buňkách srdečních síní i komor. U savců je proud vyjádřen v buňkách srdečních síní, buňkách AV uzlu a v Purkyňových buňkách. V buňkách srdeční komory není tento kanál přítomen u žádného z výše uvedených živočišných druhů, byl však popsán u fretky, potkana, psa a u člověka (160).

A) Aktivace. K aktivaci I_{KACH} dochází po vazbě acetylcholinu na M_2 muskarinový receptor. Receptor se přímo napojí na K^+ kanál pomocí vazebného proteinu na guanin – nukleotid neboli G proteinu, který je typicky inhibován toxinem pertuse. Aktivace kanálu je způsobena vazbou β -podjednotek na kanál, jak bylo prokázáno na izolovaných nativních a klonovaných kanálech (204). $G\beta\gamma$ se váže na COOH zakončení kanálu (131).

Aktivace G proteinu spojeného s K^+ kanálem je možná rovněž stimulací dalších receptorů: adenosinu (P_1 receptory), vnějšího ATP (P_2 receptory), somatostatinu, kalcitoninem generovaného peptidu, endotelinu, faktoru fosfolipidového původu, který souvisí se sérovým albuminem (52) a sfingosin-1-fosfátu (241).

Na úrovni celé buňky je proud charakterizován vnitřním usměrněním. Proud se aktivuje při hyperpolarizaci a při depolarizaci se ne zcela kompletně deaktivuje (194). Tento fenomén je podobný časově závislým změnám proudu I_{K1} , i když tyto změny mají pomalejší původ a menší amplitudu. Obdobně jako proud I_{K1} se usměrnění vysvětluje bloádou otevřeného kanálu nitrobuněčným Mg^{2+} a polyaminy (265). I_{KACH} je blokován klasickými blokátory K^+ kanálu, jako je Cs^+ a Ba^{2+} (59).

II) K^+ kanál inhibovaný ATP: *KATP*. *KATP* kanál, který byl poprvé popsán v srdečních buňkách (192), je přítomen v mnohých dalších typech buněk (135). V srdci se vyskytuje u různých živočišných druhů v buňkách komory, síně a v nodálních buňkách včetně srdce člověka (37). V srdečních buňkách má zřejmě projektivní úlohu během ischemického inzultu. Zkrácením akčního potenciálu, tvorbou inexcitability a posunem E_m blíže k rovnovážnému potenciálu pro K^+ se zabrání výrazné ztrátě K^+ . Aktivace tohoto kanálu je zřejmě rovněž zodpovědná za formování nebo ochranu proti sekundárnímu inzultu.

A) Aktivace. V záplatach mezi vnitřkem a vnějškem buňky je K^+ kanál s vysokou vodivostí aktivován, když dojde k poklesu cytoplazmatického [ATP] pod kritickou koncentraci. ATP normálně klesne na P_o . K_d určený v záplatach mezi vnitřkem a vnějškem buňky činí $\sim 0,1$ mM (157). Tuto hodnotu je nutno považovat za průměrnou hodnotu. Pro jednotlivé kanály se K_d může lišit až o tři řády velikosti a pohybuje se v rozmezí od 9 do 580 μM (87). Srdeční kanál dokáže inhibovat aniontový ATP i $MgATP$. Senzitivita vůči ATP je větší za přítomnosti

volného Mg^{2+} (86). Kinetika jednokanálové aktivity je komplexní s multiexponenciální distribucí pro otevřené a zavřené časy a salvy. Trvání salvy má obrácený vztah k $[ATP]$ a kinetika uvnitř salvy závisí na koncentraci Mg^{2+} .

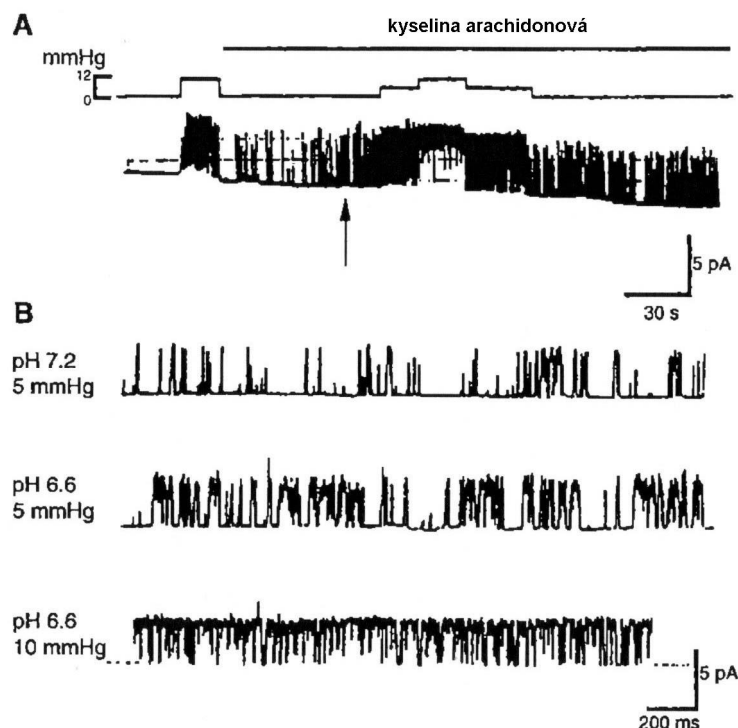
III) K^+ aktivovaný Na^+ . K^+ kanál aktivovaný Na^+ patří mezi kanály aktivované ligandami a je aktivován $[Na^+]_i$. Poprvé byl popsán v srdečních buňkách (142).

A) Aktivace pomocí $[Na^+]_i$. Kanál je selektivně aktivován $[Na^+]_i$. Jiné náhražky, jako je Li^+ jsou neúčinné. Jsou však nutné relativně vysoké koncentrace $[Na^+]_i$ (K_d 66 mM) (142). Obdobná citlivost byla zjištěna dalšími autory. Citlivost na $[Na^+]_i$ se u různých záplat liší a rovněž se liší u stejné záplaty na různých buňkách. P_o je nezávislý na napětí v rozsahu mezi -100 a +60 mV a klesá pouze při velmi negativních potenciálech (215). P_o je větší u záplat přiložených k buňce než u záplat mezi vnitřkem a vnějškem (206) a křivka odpovědi na $[Na^+]_i$ se posouvá směrem k nižším koncentracím a maximální aktivita je zvýšená (206).

Aktivita kanálu je charakterizována dvěma otevřenými stavy s časovými konstantami v řádu 0,5 a 10 ms a třemi uzavřenými stavy s časovými konstantami v řádu 0,5, 2 a 20 ms (142). Někdy může kanál vstoupit do klidového stavu na mnoho sekund.

IV) K^+ kanál aktivovaný mastnými kyselinami a amfifily. K^+ - selektivní kanály v buňkách srdeční síně novorozenečích potkanů (153) a v buňkách srdeční síně a komory dospělých potkanů (154) jsou aktivovány kyselinou arachidonovou, nenasycenými mastnými kyselinami a fosfolipidy (obr. 11).

A) Aktivace. K aktivaci dochází po přidání mastných kyselin na některou stranu membrány. Aktivace je však účinnější, pokud jsou mastné kyseliny přidány na straně cytosolu. Dostupné důkazy svědčí pro to, že pro účinnou aktivaci jsou nutné nenasycené mastné kyseliny se dvěma dvojnými vazbami. Kanál vykazuje mírnou závislost na napětí a vyšší aktivitu při depolarizovaných hladinách. Kyselina arachidonová aktivuje kanál přímo, a nikoli přes jeden ze svých metabolitů, jelikož k aktivaci dochází za přítomnosti inhibitorů cyklooxygenázy, lipooxygenázy nebo epoxygenázy. Aktivita kanálu indukovaného mastnými kyselinami se zvyšuje natažením (151), avšak natažení jako takové může rovněž aktivovat kanál a tento efekt není vyvolán uvolněním indukovaným natažením mastných kyselin. Když je kanál aktivován mastnými kyselinami, je možné jeho aktivitu zvýšit nízkým pH (151) (obr. 11). Kanál s mírně rozdílnými charakteristikami usměrnění je aktivován fosfolipidy (250).



Obr. 11 **A: Jednokanálová aktivita K^+ kanálu u komorových myocytů krysy v inside-out konfiguraci**
B: Zvýšená sensitivita K^+ kanálu vedoucí k poklesu intracelulární kyselosti (151)

2.1.1.4 Cl^- kanály

V srdečních buňkách byly popsány 4 různé typy Cl^- kanálů (127): kanál aktivovaný fosforylací závislou na PKA, který je pravděpodobně totožný s kanálem aktivovaným PKC; kanál aktivovaný $[Ca^{2+}]_i$; kanál aktivovaný $[ATP]_o$ a kanál indukovaný natažením nebo otokem. Všechny kanály s výjimkou Cl^- kanálu indukovaným PKA jsou blokovány sloučeninami disulfonického stilbenu (DIDS a SITS). Kanál aktivovaný PKA je blokován 4,4'-dinitrostilben-2,2'-disulfonickou kyselinou (DNDS). Tyto kanály mají pomalé vnější usměrnění za symetrických podmínek Cl^- . Usměrnění je mnohem méně přítomné u proudu indukovaného PKA.

Fyziologickou úlohu Cl^- proudů však nelze přesně popsat, jelikož situace, kdy se proudy aktivují, může být přítomna pouze za fyziopatologických podmínek: sekrece katecholaminů u I_{ClPKA} , buněčný otok způsobený osmotickými silami u $I_{Clswell}$, sekrece ATP v extracelulárním

médiu u I_{ClATP} . Dokonce i I_{ClCa} , který je aktivován fyziologickými procesy, tj. uvolněním Ca^{2+} ze sarkoplazmatického retikula, není zřejmě vyjádřen ve všech buňkách (chybí v buňkách srdeční síně u člověka 168). Hustota a exprese proudů se výrazně liší; obecně je I_{ClPKA} lépe zastoupen v buňkách srdeční komory a $I_{Clswell}$ v buňkách srdeční síně.

A) Cl^- KANÁL ZÁVISLÝ NA PKA A Cl^- KANÁL ZÁVISLÝ NA PKC. Cl^- proud aktivovaný PKA (93) je typicky přítomný v srdeční komoře a méně v síni. Tento proud byl popsán v srdeční komoře morčete (181), králíka (zejména v subepikardu a kočky a dále v srdeční síni u člověka a v srdeční komoře opice (256). Tento proud není přítomen v sinoatriálním uzlu či srdeční síni králíka, síni a komoře psa či v srdeční komoře myši a potkana.

Aktivace. Kanál závislý na PKA je typicky aktivován po stimulaci β -receptorů (93). Biochemická dráha zahrnuje fosforylaci regulační domény CFTR proteinu. Tento protein se skládá ze dvou membránových domén a každá z nich ze šesti transmembránových segmentů, dvou NBD a jedné regulační domény, všechny jsou cytoplazmatické. β -receptory a histaminové receptory jsou pozitivně propojeny s PKA. K negativnímu propojení dochází prostřednictvím receptorů M_2 , endotelinu A a ANG II. Nezdá se, že by do tohoto procesu byla zapojena dráha syntetázy oxidu dusnatého (NO) (268). Aktivace cestou cAMP je usnadněna simultánní inhibicí tyrosinkinázy a předchozí expozicí acetylcholinu.

B) OTOKEM INDUKOVANÝ NEBO NATAŽENÍM AKTIVOVANÝ Cl^- KANÁL. Objemem aktivovaný Cl^- kanál je přítomen v buňkách srdeční síně králíka, morčete, psa a člověka (197, 213) a v buněčných kulturách kuřecího embrya a pravděpodobně i v buňkách novorozeného potkana.

Aktivace. K aktivaci dochází vystavením buněk hypotonickým roztokům, tlakem pipetou nebo po inkorporaci aniontového amphipath zevního listu membrány, který zvyšuje zakřivení membrány (240). I když natažení může být doprovázeno změnami v cytoskeletonu, pro aktivaci není zapotřebí integrity cytoskeletonu. Aplikace kolchicinu, který rozruší mikrotubuly, nebo cytochalasinu, který rozruší F-aktin, nevedla ke změně aktivace otokem. K aktivaci nedojde okamžitě, její rozvoj je otázkou minut (233). Jako základní mechanismus aktivace byla navržena fosforylace tyrosinkinázou (238), protože tento proces je blokován inhibicí tohoto enzymu. Je známo, že natažení buněk může vést k aktivaci fosforylace tyrosinu (211). Za isotonických podmínek je kanál aktivní u malého procenta buněk. K aktivaci není potřebná stimulace PKA nebo vzestup $[Ca^{2+}]_i$ (240). Proud zesiluje forskolin po své objemové aktivaci (197), pravděpodobně přímým účinkem cAMP. Stimulace

proteinkinázy C proud neaktivuje, ale naopak spíše inhibuje. Některé z těchto změn jsou citlivé na napětí a vykazují inaktivaci při depolarizaci (227).

C) Cl^- PROUD AKTIVOVANÝ INTRACELULÁRNÍM Ca^{2+} . V myocytech králíka byl prokázán přechodný vnější proud, který je závislý na intracelulárním Ca^{2+} (275). Tento proud se nazývá i_{to2} . Tento proud existuje rovněž v Purkyňových buňkách u králíka, v srdeční síni u králíka, v buňkách srdeční komory a síně psa, v myocytech srdeční komory fretky a v buněčné kultuře z buněk kuřecího srdce. Tento proud nebyl zjištěn v srdeční síni člověka (168).

Aktivace. Během srdečního akčního potenciálu je Cl^- proud aktivován Ca^{2+} uvolněným ze sarkoplazmatického retikula po vstupu Ca^{2+} , a to pomocí L-typu Ca^{2+} kanálu. Důkazy podporující tuto hypotézu jsou založeny na pozorování, že vzniku proudu zabrání blokáda L-typu Ca^{2+} kanálu, blokáda uvolnění sarkoplazmatického retikula Ca^{2+} kanálu a intenzivní pufrování intracelulárního Ca^{2+} , zatímco stimulace přítoku Ca^{2+} isoproterenolem má opačný účinek. Expozice kofeinu, který uvolňuje Ca^{2+} z předem naplněného zásobníku v sarkoplazmatickém retikulu, vyvolá vznik proudu i při negativních hodnotách E_m , což ukazuje na to, že základním fenoménem vedoucím k aktivaci je vzestup lokálního $[\text{Ca}^{2+}]$, a nikoliv depolarizace (230). Byly popsány aktivační a inaktivační křivky (148). Tyto křivky nelze považovat za expresi závislosti Cl^- kanálu na napětí, ale jsou vytvářeny zejména závislostí Ca^{2+} proudu na napětí.

V současné době je nejjednodušším vysvětlením předpoklad, že k aktivaci kanálu je potřebné zvýšení $[\text{Ca}^{2+}]$ (vysoký práh), takže časový průběh proudu je určen pouze krátkým vrcholem přechodu. Při zvýšené náloži Ca^{2+} je Cl^- prodloužen a má mnohem menší kinetiku, i když trvání zůstává kratší, než je intracelulární Ca^{2+} přechod. (198). Je důležité podotknout, že proud může být aktivován při negativních potenciálech (230), a tak může mít úlohu v genezi opožděných zadních depolarizací a arytmií.

D) Cl^- PROUD AKTIVOVANÝ EXTRACELULÁRNÍM ATP.

Aktivace. Purinergní aktivace Cl^- proudu je prokázána v buňkách srdečních síní u morčete a v buňkách srdeční komory u myši a potkana. K aktivaci dochází za přítomnosti ATP, adenosin 5'-O-(3-thiotrifosfátu), nehydrolyzovatelných analog ATP, ADP a AMP. Aktivace je pomalá a trvá sekundy, což ukazuje na intervenci intracelulárního posla. Možností je stimulace metabolismu fosfoinositolu s druhotnou aktivací PKC diacylglycerolem (264).

2.1.1.5 Neselektivní kationtové kanály a I_f kanál

V srdci se aktivuje řada neselektivních kationtových kanálů (NSC) pomocí stimulů, které aktivují rovněž Cl^- proudy, jako vzestup $[\text{Ca}^{2+}]_i$, vzestup $[\text{ATP}]_o$ a natažení. Jiné kanály jsou aktivovány kyslíkovými radikály a amfifily, depolarizací (trvalý vnitřní proud neboli I_{st}) a hyperpolarizací (I_f proud). Byl popsán i NSC proud, u kterého nejsou známe aktivační mechanismy. Tento proud je spontánně aktivní, a lze ho tak považovat za zbytkový proud. Všechny tyto proudy se liší svou permeabilitou a charakteristickými parametry blokády.

Jak I_{st} , (popsán pouze v sinusu), tak i I_f (přítomný v uzlových buňkách, Purkyňových buňkách a prostých buňkách srdeční síně a komory) mají důležitou úlohu ve tvorbě vzruchu za fyziologických i patologických podmínek.

Zdá se, že k aktivaci dalších proudů NSC dochází pouze za patologických podmínek (vzestup $[\text{Ca}^{2+}]_i$, $[\text{ATP}]_o$, prodloužení buněk, přítomnost radikálů a amfifilů). Jelikož tyto proudy nesou při negativních hodnotách E_m toky iontů směrem do buňky, vedou k tomu, že klidový potenciál je pozitivnější než E_K , a tak podporují ztrátu K^+ , k níž dochází průchodem přes draslíkové kanály, které mají v podmínkách ischemie zvýšenou vodivost.

A) INTRACELULÁRNÍ KATIONTOVÝ KANÁL AKTIVOVANÝ VÁPŇÍKOVÝMI IONTY. Rozlišujeme dva typy těchto kanálů: jeden je aktivován pouze působením $[\text{Ca}^{2+}]_i$, kdežto k aktivaci druhého je navíc zapotřebí depolarizace.

1) První typ kanálu. První typ těchto kanálů byl popsán u preparátů, kdy je měřený úsek membrány vytržen z buňky, takže na cytoplazmatické straně může působit experimentální roztok (tzv. „inside out konfigurace“) (64), u preparátů, kdy je okraj elektrody přiložen zevnějšku k buňce (tzv. „cell-attached patches“) (77) a u preparátů s celými buňkami (179).

K aktivaci těchto proudů dochází poté, co je buňka vystavena působení média neobsahujícího sodíkové ionty (77), roztoku o vysoké $[\text{Ca}^{2+}]_o$ a nízké $[\text{K}^+]_o$ (108), po intracelulární injekci Ca^{2+} (179), aplikaci kofeinu, buněčné dialýze s využitím roztoků obsahujících mikromolární koncentraci vápníkových iontů a působení volných kyslíkových radikálů (137). Hodnota K_d pro tzv. „inside-out“ preparáty s Ca^{2+} dosahuje 1,2 μM s Hillovým koeficientem rovným 3. Aktivita kanálu je citlivá na velké změny napětí (77).

Vztah mezi proudem a napětím je lineární, přičemž se obrací při nulových nebo mírně negativních hodnotách E_m . Kanál je stejně prostupný pro sodíkové, draslíkové, lithiové i cesiové ionty, anionty však jimi neprocházejí. Kinetika kanálu je nezávislá na napětí, značný vliv však má $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Při 10 μM je střední doba, po kterou je kanál otevřen, 3,8 až 140 ms, a

střední doba, po kterou je uzavřen, 1,8 až 15 ms (77). Působením $[Ca^{2+}]_i$ se dlouhá doba otevření kanálu prodlužuje, zatímco doba zavření se zkracuje. Někdy pozorujeme, že dochází k otevření kanálu až po dobu několika sekund.

II) Druhý typ kanálu. Druhý typ kanálu aktivovaného vápníkovými ionty, který je charakterizován zcela odlišnými aktivačními parametry a parametry vodivosti, byl nalezen po umístění cisteren sarkolemy izolovaných z komory dospělého psa do lipidových dvouvrstev (410). Tento kanál nebyl nalezen v preparátech konfigurace „cell-attached“ či „inside-out“, což může být odrazem toho, že se nachází ve výchlípkách sarkolemy.

Kanál je aktivován kombinací depolarizace a vzestupu $[Ca^{2+}]_i$. Pokud jsou vápníkové ionty přítomny v množství nedosahujícím 100 nM, kanál je aktivován v případě potenciálů, které na tzv. cis-straně (cytoplazmatické straně) dosahují pozitivnějších hodnot než -60 mV. K_d pro Ca^{2+} je menší než 1 μM a Hillův koeficient se rovná dvěma. Kinetiku lze popsat na základě dvou časových úseků, kdy je kanál otevřen, (5,6 a 22 ms) a dvou časových úseků, kdy je zavřen (9 a 29 ms). Vztah mezi proudem a napětím je lineární. Kanál je stejně prostupný pro sodíkové i pro draslíkové ionty.

B) EXTRACELULÁRNÍ DOČASNÝ KATIONTOVÝ KANÁL AKTIVOVANÝ NA ZÁKLADĚ PŮSOBNÍ ATP. V žabích síňových kardiomyocytech, v SA uzlu u králíka, v atriálních buňkách králíka a atriálních a ventrikulárních buňkách morčete a ventrikulárních buňkách krys je na základě $[ATP]_o$ aktivován dočasný depolarizující kanál, jehož citlivost rychle klesá. K_d pro $[ATP]_o$ je 56 μM (92). Adenosin, AMP a ADP vliv na kanál nemají. Aktivitu kanálu naproti tomu blokuje theofylin. Na základě činnosti agonistů a antagonistů lze zúčastněný receptor klasifikovat jako receptor P_{2x} . Kanál není senzitivní vůči $[Ca^{2+}]_i$ (271). Vztah mezi proudem a napětím je lineární (92) nebo mírně usměrňující dovnitř buňky. Hodnota E_{rev} se blíží 0 mV, což naznačuje, že se v případě tohoto kanálu jedná o neselektivně propustný kanál. Aktivace kanálu vede ke vzestupu $[Ca^{2+}]_i$. Z funkčního hlediska připomíná kardiální kanál aktivovaný pomocí $[ATP]_o$. Svou strukturou se podobá dovnitř usměrňujícímu kanálu (tzv. „inward rectifying channel“), přičemž jeho jednotková vodivost je při napětí rovném -100 mV 15 pS. Je propustný pro sodíkové, draslíkové a vápníkové ionty. Rektifikace směrem dovnitř exprimovaného kanálu je důsledkem napětově-závislého vrátkování (tzv. „gating“) a omezení vodivosti kanálu (272).

C) KATIONTOVÝ KANÁL CITLIVÝ NA PRODLOUŽENÍ BUNĚK (tzv. „stretch“). V atriálních buňkách krys, buňkách novorozených krys, kultivovaných srdcích kuřete, ventrikulárních buňkách morčete a ventrikulárních kardiomyocytech psa byly popsány NSC proudy aktivované na základě prodloužení buňky nebo zvýšení jejího objemu (otokem).

Kanál v atriálních buňkách krys je propustný pro monovalentní kationty a vápníkové ionty (poměr P_{Ca}/P_K je odhadován na 0,9) (152) a může hrát roli při vzniku overloadu Ca^{2+} a zahájení sekrece natriuretického faktoru. Vztah mezi proudem a napětím je lineární, přičemž jednotková vodivost kanálu je 21 pS (152).

D) NSC KANÁL AKTIVOVANÝ AMFIFILY. Ve ventrikulárních buňkách morčete (631) a ventrikulárních buňkách králíka (114) je kanál NSC aktivován amfifily.

E) NSC KANÁL AKTIVOVANÝ OXIDATIVNÍM STRESEM. Kanál NSC je aktivován v případě vystavení ventrikulárních kardiomyocytů morčete působení extracelulárních radikálů, přičemž k tomu není potřeba zvýšení $[Ca^{2+}]_i$ (472). Podobný proud je aktivován dalšími oxidačními látkami, jako např. thimeroselem a diamidem a singletový kyslík. Kanál aktivovaný vnitřními volnými radikály je blokován ionty Ni^{2+} a Gd^{3+} (137).

F) NSC KANÁLY POZADÍ. V buňkách SA uzlu králíka, atriálních a ventrikulárních kardiomyocytech morčete a v lidských atriálních buňkách (67) byl popsán kanál pozadí směřující dovnitř buňky. V atriálních a ventrikulárních buňkách vede přítomnost proudu pozadí k tomu, že klidový potenciál je méně negativní než E_K . V nodálních buňkách hraje roli při pacemakerové aktivitě.

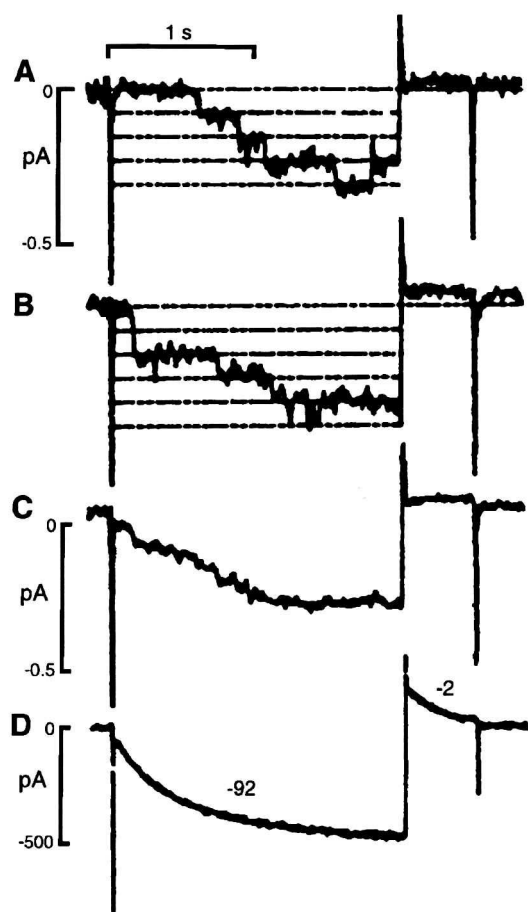
G) TRVALÝ PROUD SMĚREM DOVNITŘ. V buňkách SA uzlu králíka (105) a morčete (104) je proud směrem do buňky aktivován při depolarizaci od -80 do -60 mV a pozitivnějších hodnotách. V rozsahu potenciálů, kde pozorujeme vznik spontánní aktivity, se tento proud jeví jako trvalý proud směřující do buňky. K inaktivaci dochází pomalu po relativně vysoké depolarizaci.

Kanál je propustný pro monovalentní kationty, přičemž při depleci extracelulárního Na^+ je téměř potlačen. Odhlédneme-li od jeho parametrů propustnosti, připomíná tento kanál vápníkový kanál typu L.

H) PACEMAKEROVÝ PROUD. Srdeční stah vzniká za normálních okolností v SA uzlu. Elektrická aktivita v uzlu je charakterizována přítomností diastolické depolarizace. Tohoto procesu se účastní mnoho proudů (193). Jeden z důležitých proudů – pacemakerový proud I_f – je aktivován ve fázi repolarizace akčního potenciálu a vede ke vzniku proudu směrem do buňky. Proud I_f byl popsán především v SA uzlu, AV uzlu a v Purkyněho buňkách, je však také přítomen v atriálních (202) a ventrikulárních buňkách (61). Po hyperpolarizaci membrány SA uzlu z hodnoty -40 mV na negativnější hodnoty dochází k aktivaci proudu směrem do buňky, který pomalu narůstá, až dosáhne stabilní úrovně (193) (obr. 12). Po návratu na depolarizační hodnoty je kanál deaktivován. Časové konstanty při depolarizaci trvají řádově vteřiny, při hyperpolarizaci se však zkracují. V buňkách SA uzlu

dochází ke zvýšení aktivační křivky z -40 mV na -100 mV, přičemž polovina maximální hodnoty dosahuje -60 mV a strmost (tzv. „slope“) 10 mV. Působením $[K^+]_o$ se nemění (91). V Purkyňových (54) a ventrikulárních buňkách (267) je aktivační křivka umístěna více negativně než v SA uzlu. Rozdíl závislosti na napětí se projevuje jako diastolická depolarizace, k níž dochází při větší hyperpolarizaci. Rozdíl aktivačního napětí může být důsledkem rozdílů sympatického tonu a aktivity adenylátcyklázy. V komorových buňkách může mít tento proud význam při patologických stavech díky posunu aktivační křivky, k němuž dochází následkem sekrece katecholaminů či dediferenciace (83).

Plně aktivovaný vztah mezi proudem a napětím je lineární a obrací se při hodnotách -10 až -20 mV, což naznačuje, že se jedná o neselektivní kanál, který propouští draslíkové a sodíkové ionty (123). Propustnost pro ostatní kationty, jako je Li^+ , Rb^+ a Cs^+ , je buď malá nebo je kanál pro tyto ionty nepropustný (70). V rozsahu diastolického potenciálu směřuje kanál dovnitř buňky a je nesen sodíkovými ionty. Na úrovni jednotlivého kanálu byly zaznamenány malé proudy o vodivosti dosahující pouze 1 pS (71) (obr. 12). Jelikož preparáty obsahovaly mnoho malých kanálů, nebylo možné získat informace o kinetice jednotkové aktivity kanálu.



Obr. 12 Záznam jednoho kanálu (A,B) pacemakerového proudu u buňky SA uzlu králíka, kde je okraj elektrody přiložen zvnějšku během hyperpolarizace z -32 do -92 mV; C a D znázorňuje průměrný proud elektrodou a proud celé buňky ve stejné buňce (71)

Amplituda plně aktivovaného proudu je senzitivní vůči $[K^+]_o$ (70,178): vzestup $[K^+]_o$ vede ke zvýšení proudu iontů, které se kanálem dostávají směrem do buňky (91). V médiu bez přítomnosti draslíkových iontů je proud směrem dovnitř prakticky nulový. Kanál stále podstupuje aktivaci a po depolarizaci dochází ke vzniku mohutného proudu směřujícího do buňky.

Závislost proudu na napětí a kinetika makroskopického proudu se však přítomností $[K^+]_o$ nemění, což znamená, že P_o se nemění, nicméně dochází k modulaci jednotkové vodivosti kanálu. Selektivita pro Na^+ je při nízkých hodnotách $[K^+]_o$ zvýšena (opačné posuny ve směru depolarizace) (123).

2.1.1.6 Elektrogenní výměníky

A) VÝMĚNA Na^+/Ca^+ . Výměna Na^+/Ca^+ (200) hraje důležitou roli při regulaci $[Ca^{2+}]_i$, při vzniku vazby mezi excitací a kontrakcí (zvýšení napětí a relaxace) a při určování časového průběhu akčního potenciálu (75) a obnovení původního elektrického napětí po stimulaci.

Hustota elektrogenního výměníku v srdci se liší podle jednotlivých druhů živočichů (219). Je hustší u novorozenců (35), zatímco s vývojem se přesunuje k T tubulům či k cytoplazmatické membráně v místech kontaktu s junkčním sarkoplazmatickým retikulem. Tyto závěry však byly zpochybněny. Ke zvýšené expresi dochází u selhávajícího srdce a u chorob se zvýšenými hodnotami $[Na^+]_i$ po podání ouabainu či tyreoidálních hormonů.

1) Aktivace

Za normálních klidových podmínek lze vypočíst, že hodnota E_{rev} se rovná přibližně -30 mV (76). Při negativnějším potenciálu se ionty Na^+ pohybují směrem z buňky a Ca^{2+} směrem do buňky (tzv. „forward mode“), přičemž dochází k vytvoření proudu směrem dovnitř. Při pozitivnějším potenciálu se ionty Ca^{2+} pohybují směrem do buňky, zatímco Na^+ ven (tzv. „reverse mode“ neboli opačný směr), přičemž dochází k vytvoření proudu směrem ven z buňky (409). Vztah mezi proudem a napětím vykazuje rektifikaci směrem ven. Na počátku akčního potenciálu přenašeč přenáší ionty Ca^{2+} dovnitř buňky a podporuje repolarizaci. S tím, jak se Ca^{2+} uvolňuje ze sarkoplazmatického retikula, dochází ke změně E_{rev} přenašeče (45), což vede ke změně směru proudu a zpomalení repolarizace. Působení výměníku blokují ionty Ni^{2+} a Cd^{2+} (155).

Intracelulární ionty Ca^{2+} neslouží pouze jako substrát této reakce, ale mají také modulační účinky. Např. aby mohl výměník fungovat opačným směrem, je zapotřebí pouze malé množství iontů Ca^{2+} . K_d v případě modulačního místa je 2 nM, což je koncentrace, která je mnohem menší než K_d v případě Ca^{2+} fungujícího jako substrát.

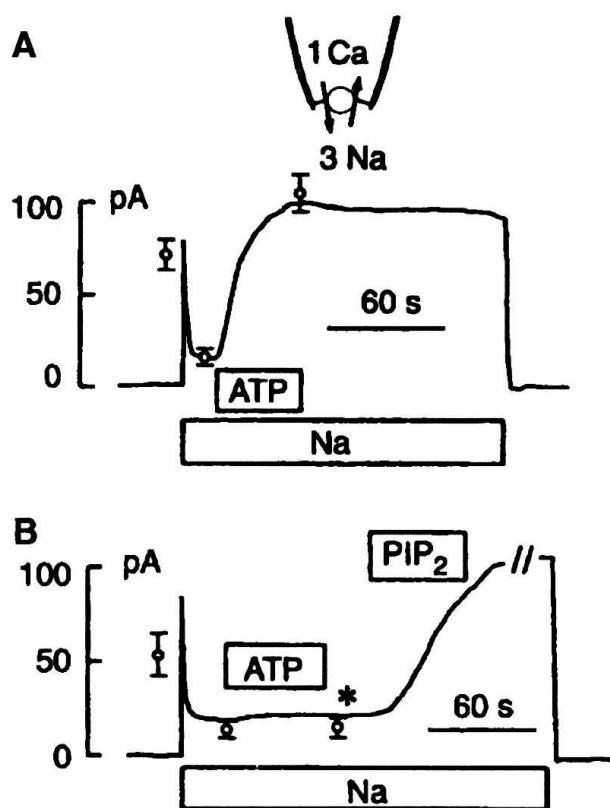
Koncentraci Ca^{2+} blízko přenašeče ovlivňuje přítomnost negativně nabitých fosfolipidů, např. fosfatidylserinu (118) a kyselina fosfatidová, které jsou produkovány pomocí fosfolipázy D na plazmologenech. Přidáním negativně nabitých fosfolipidů či detergentů dochází ke stimulaci aktivity přenašeče, zatímco pozitivně nabitě detergenty způsobují inhibici. Koncentrace negativně nabitých fosfolipidů je regulována pomocí reakce „flipázy“ (118). Pomocí flipázy či ATP-dependentní aminofosfolipidové translokázy dochází k přenosu fosfatidylserinu nebo fosfatidyletanolaminu z vnější na vnitřní stranu membrány, zatímco flipáza odpovídá za transport opačným směrem.

Intracelulární Na^+ stimuluje výměník, tento účinek však vykazuje znaky inaktivace (182) (obr. 13). Tento proces se podobá inaktivaci kanálu a závisí na vazbě Na^+ . Část výměníku by měla být oddělena a mělo by dojít k její inaktivaci. Ve ventrikulárních buňkách u krys obsahujících nižší množství ATP a vyšší koncentraci Na^+ na vnitřní straně buňky dochází ke značnému snížení maximální rychlosti (V_{\max}) výměníku, aniž by to přitom vedlo ke změně K_d pro Na^+ a Ca^{2+} . Výměník není přímo závislý na ATP, avšak pro zachování nízké hladiny $[\text{Na}^+]_i$ pomocí sodnodraselné pumpy je nezbytná hydrolýza ATP, která udržuje negativně nabitě fosfolipidy na membráně v mezích kritické koncentrace a eliminuje proces inaktivace způsobený Na^+ (117).

II) Prostupnost: elektrogenní charakter a jeho zvrácení. Transport Ca^{2+} z buňky proti elektrochemickému gradientu vyžaduje určitou energii. Tuto energii dodává distribuce Na^+ , která umožňuje významný pasivní průnik Na^+ směrem do buňky. Aby se koncentrace $[\text{Ca}^{2+}]_i$ dostala na submikromolární úroveň, je nezbytné přetransportovat přibližně tři ionty Na^+ na jeden iont Ca^{2+} . Tato stechiometrie byla potvrzena experimentálně na základě měření efluxu a pomocí tzv. metody napěťové svorky („voltage-clamp“) (76) a dokládá, že se v případě výměnné pumpy jedná o elektrogenní mechanismus, který lze charakterizovat pomocí rovnice $E_{\text{rev}, \text{Na, Ca}} = (nE_{\text{Na}} - 2E_{\text{Ca}})/n - 2$, nebo v případě tří iontů Na^+ na jeden iont Ca^{2+} pomocí rovnice $E_{\text{Na, Ca}} = 3E_{\text{Na}} - 2E_{\text{Ca}}$.

B) SODNODRASELNÁ PUMPA. Tato pumpa má za úkol přenášet sodíkové ionty ven z buňky a draslíkové ionty směrem dovnitř. V obou případech jde o směr, který je opačný pasivnímu pohybu těchto iontů. Aby byl tento aktivní přenos pomocí zmíněné pumpy možný, musí dostávat energii. Na základě experimentů bylo zjištěno, že každá spotřebovaná molekula

ATP umožňuje transport dvou Na^+ a tří K^+ , což znamená, že tento mechanismus vytváří elektrický potenciál, je však také citlivý na E_m (90).



Obr. 13 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ výměňkový proud u komorových myocytů morčete mezi mikroelektrodami
A: Proud aktivovaný intracelulárním Na^+ , který je rychle inaktivován k ustálené úrovni, ale opět aktivovaný dodáním ATP
B: Dodaný ATP bez efektu (182)

Aktivací pumpy dochází k hyperpolarizaci klidového E_m nebo k repolarizačnímu účinku v průběhu akčního potenciálu. Tyto jevy jsou dobře patrné hlavně při vysokofrekvenční stimulaci, a to díky vzestupu $[\text{Na}^+]_i$, který pumpu aktivuje. V SA uzlu (sinusovém uzlu) a Purkyňových vlákních působí tento hyperpolarizační účinek proti spontánní diastolické depolarizaci, přičemž je znám pod názvem „overdrive suppression“ (262).

Nízká hodnota K_d pro K^+ znamená, že došlo k maximální stimulaci rychlosti pumpy za fyziologických hodnot $[\text{K}^+]_o$. Se zvyšujícím se $[\text{K}^+]_i$ se snižuje citlivost na $[\text{Na}^+]_i$, i když na celkovou rychlost pumpy to vliv nemá. Za fyziologických koncentrací je proud přímo úměrný

$[Na^+]_i$, což vysvětluje, proč rychlost pumpy reaguje na frekvenci stimulace. Ve spontánně aktivních buňkách povede zvýšení frekvence k zesílení proudů iontů směrem z buňky, což působí jako negativní zpětná vazba na rychlost impulzů – jedná se o fenomén nazývaný „overdrive suppression“. Zvýšená aktivita pumpy má význam při zkrácení akčního potenciálu a potlačení spontánní aktivity pomocí frekvence stimulace (242).

II) Propustnost, závislost na napětí a E_{rev} . Přenos pomocí pumpy je elektrogenní a závisí na napětí. Množství spotřebované energie s hyperpolarizací roste. Když se množství energie nutné k transportu tří iontů Na^+ ven z buňky a dvou iontů K^+ do buňky vyrovná energii získané hydrolýzou molekuly ATP, pumpa se zastaví. Tyto dvě hodnoty jsou si rovny z určitého E_m , které nazýváme E_{rev} pumpy. Potenciál E_{rev} je tak určen na základě volné energie získané hydrolýzou ATP a rovnovážnými potenciály pro Na^+ a K^+ . Za normálních podmínek $[Na^+]_i$, $[K^+]_o$, $[ATP]$, $[ADP]$ a $[P_i]$ se E_{rev} rovná přibližně -180 mV ($E_{rev} = \Delta G_{ATP}/F + 3E_{Na} - 2E_K$).

Při poklesu $[ATP]$ a nárůstu $[P_i]$, což jsou změny, k nimž dochází v průběhu inhibice metabolismu, se E_{rev} posouvá směrem k méně negativním potenciálům. Jakmile se hodnota E_{rev} přiblíží k hodnotě E_m , rychlost pumpy se podstatně sníží a nakonec se může zastavit úplně.

Rychlost pumpy jako funkce E_m vykazuje široké maximální hodnoty od -80 do ≈ 0 mV. Klesá při negativnějších potenciálech, přičemž při velmi nízkých hodnotách potenciálu kolem -180 mV se zjevně obrací. Rychlost pumpy se snižuje také při pozitivních potenciálech převyšujících 0 mV (49). Závislost na napětí s negativním a pozitivní strmostí (slope) se mění s hodnotami $[Na^+]_o$ a $[K^+]_o$. Při sníženém $[Na^+]_o$ je pozitivní strmost vztahu mezi proudem a napětím méně zřetelný, tj. rychlost pumpy se při negativním E_m zvyšuje. Na základě výpočtu závislosti $[Na^+]_o$ na E_m je vidět, že s hyperpolarizací (K_d klesá) stoupá zřejmá afinita transportního proteinu k $[Na^+]_o$. Negativní strmost při pozitivních hodnotách potenciálu lze podobným způsobem změnit zvýšením $[K^+]_o$: jinými slovy zřejmá afinita ke $[K^+]_o$ se s depolarizací snižuje.

Závislost pumpy na napětí byla vysvětlena na základě předpokladu, že část molekuly funguje jako iontový kanál (94). Na podporu této hypotézy byly měřeny tzv. vrátkovací proudy („gating currents“) (116). Předpokládá se, že závislost na napětí vzniká v důsledku toho, že se vazebná místa pro kationy v rámci pumpy nacházejí v membráně a jsou přístupná pomocí úzkého kanálu pouze z vnější části buňky. Skutečná koncentrace Na^+ a K^+ na vazebných místech závisí na napěťovém gradientu v tomto přístupovém kanálu, přičemž čím negativnější je E_m , tím je vyšší, zatímco při pozitivnějších hodnotách potenciálu je situace

přesně opačná. Čím vyšší je hodnota $[Na^+]$, tím obtížnější je uvolňování Na^+ od mimobuněčného prostoru. Při negativních hodnotách potenciálu dojde ke zvýšení hodnot $[K^+]$, tento mechanismus však není účinný, dosáhla-li koncentrace hodnot blízkých úrovni nasycenosti v kontrolních podmínkách. Při pozitivních hodnotách potenciálu se skutečná hodnota $[K^+]$ sníží, přičemž může klesnout pod úroveň saturace, a vést tak ke snížení rychlosti pumpy.

Pumpu blokují digitální preparáty, její senzitivita je však závislá na jednotlivých druzích živočichů.

2.1.2 Iontové kanály v intracelulárních organelách

2.1.2.1 Kanály sarkoplazmatického retikula

Membrána sarkoplazmatického retikula je polopropustná membrána s vysokou vodivostí pro K^+ a Cl^- (185). Jediným důležitým gradientem je gradient Ca^{2+} , zatímco ionty K^+ a Cl^- jsou podle všeho v membráně distribuovány rovnoměrně. Odhaduje se, že koncentrace volného $[Ca^{2+}]$ dosahuje 700 μM (220). Při cytoplazmatické koncentraci ve výši $\approx 0,1 \mu M$ to představuje gradient ve výši 7.000. $E_{rev} Ca^{2+}$ je tedy >200 mV, zatímco se odhaduje, že se potenciál sarkoplazmatického retikula rovná 0 mV. To znamená, že proti tomuto vysokému chemickému gradientu elektrický gradient nepůsobí. Při uvolnění Ca^{2+} se vnitřek membrány sarkoplazmatického retikula stává negativním, ale maximálně v hodnotě několika milivoltů z důvodu pohybu párových iontů K^+ a H^+ směrem do buňky a Cl^- směrem z buňky (95). Byly popsány dva uvolňovací kanály (tzv. „release channels“): ryanodinový receptorový kanál a receptorový kanál pro inositol 1, 4, 5-trisfosfát (IP_3).

A) UVOLŇOVACÍ KANÁL PRO Ca^{2+} NEBO RYANODINOVÝ RECEPTOR (RYR). V kardiomyocytech savců představuje sarkoplazmatické retikulum zásobník, odkud jsou v průběhu akčního potenciálu uvolňovány ionty Ca^{2+} . V tomto procesu hraje důležitou roli kanál sarkoplazmatického retikula prostupný pro Ca^{2+} . Uvolněné ionty Ca^{2+} aktivují také výměnný proud mezi Na^+ a Ca^{2+} , proud NSC a proud Cl^- , které se mohou účastnit vzniku časné a pozdní sekundární depolarizace. Za podmínek nadměrné koncentrace Ca^{2+} (tzv. „overload“) tak tento kanál hraje nepřímou, ale důležitou úlohu při vzniku spuštěné aktivity. Tento kanál je specificky blokován ryanodinem.

I) Aktivace. Zdá se, že v kardiomyocytech je spouštěčem aktivace kanálu lokální nárůst $[Ca^{2+}]_i$ v důsledku přílivu Ca^{2+} v průběhu akčního potenciálu (82). Malá část uvolňování Ca^{2+} ze sarkoplazmatického retikula může být aktivována přímo napětím, a to podobným způsobem, jaký se uplatňuje v kosterním svalstvu (124). Zdá se, že tento napětově závislý mechanismus lze pozorovat za přítomnosti cAMP a nedávné experimenty ukazují, že za těchto podmínek se může sodíkový kanál stát propustným pro ionty Ca^{2+} .

B) RECEPTOR IP_3 . Ačkoli je úloha IP_3 v buňkách hladkého svalstva a neexcitabilních buňkách (44) dobře známa, existují důkazy o tom, že by IP_3 mohl hrát určitou roli i v srdci. Je potřeba se zmínit o třech aspektech: 1) k uvolňování IP_3 dochází v kardiomyocytech, 2) jsou přítomny receptory IP_3 a 3) IP_3 vede k uvolňování iontů Ca^{2+} (177).

1) Inositol 1,4,5-trisfosfát je uvolňován z cytoplazmatické membrány po aktivaci různých receptorů (M_2 , M_1 , P_2 , endotelinu). Uvolňování IP_3 je významné zejména v průběhu rané reperfuze, přičemž je tento účinek zprostředkován aktivací α -receptorů (263).

2) Receptory pro inositol 1,4,5-trisfosfát lze na základě imunolokalizace lokalizovat do oblasti interkalárního disku. Expres je vyšší v Purkyněho vlákních než v jiných buňkách (100). Na základě vazebných studií byly receptory IP_3 nalezeny ve větším množství mj. ve frakcích obsahujících interkalární disky, zatímco ve frakcích obsahujících longitudinální sarkoplazmatické retikulum byla zjištěna minimální či nulová vazba (150). Při srovnání s RyR je hustota těchto receptorů padesátinásobně nižší. Ke zvýšené expresi receptorů IP_3 u selhávajícího srdce, zatímco exprese RyR se snižuje (177).

3) Inositol 1,4,5-trisfosfát vede k uvolňování iontů Ca^{2+} . Mikrozoomy srdeční tkáně, které tvoří ploché dvojvrstvy, vykazují kanálovou aktivitu modulovanou IP_3 . Byly zjištěny čtyři „podstavy“. Vodivost je ve srovnání s vodivostí RyR menší (85 pS), propustnost bivalentních iontů je však stejná s tím, že se poměr vodivosti mezi bivalentními a monovalentními kationty rovná přibližně šesti (48).

C) K^+ , Cl^- a H^+ KANÁLY V SARKOPLAZMATICKÉM RETIKULU. Mimo kanál uvolňující ionty Ca^{2+} představují K^+ , Cl^- a H^+ vysoce vodivé kanály v membráně sarkoplazmatického retikula. V jejich přítomnosti je membrána sarkoplazmatického retikula uzavřena přibližně při nulovém potenciálu. Tímto způsobem je zaručen vysoký gradient, který nutí vápníkové ionty k přestupu z lumen do cytoplazmy. Tok iontů K^+ , H^+ a Cl^- jakožto párových iontů usnadňuje pasivní uvolňování i aktivní vychytávání iontů Ca^{2+} pomocí Ca^{2+} -ATPázy.

I) H^+ kanál. Není známo, zda se přesun iontů H^+ děje přes kanály, význam toku protonů však byl prokázán na základě měření změn E_m působením pH za přítomnosti iontů neprostupujících membránou (186). V průběhu uvolňování dochází k acidifikaci, zatímco alkalizace byla zjištěna během opětovaného vychytávání iontů Ca^{2+} (167).

II) K^+ kanál. V membráně sarkoplazmatického retikula existuje K^+ kanál se zvýšeným P_o při 0 mV (210). Kinetika tohoto kanálu je velmi pomalá – kanály jsou otevřeny pouze několik setin milisekund.

V izotonickém roztoku $[K^+]$ je vodivost jednoho kanálu 150 pS a vztah mezi proudem a napětím je lineární (210). Vodivost závisí na koncentraci, přičemž k její saturaci dochází při 200 mM.

III) Cl^- kanál. V sarkoplazmatickém retikulu myokardu zůstává Cl^- kanál při 0 mV otevřený. Na napětí je závislý málo (209) nebo vůbec (149). Vrátkování (tzv. „gating“) jednoho kanálu je charakterizováno dvojím obdobím otevření a dvojím obdobím uzavření (149).

V kardiomyocytech je vztah mezi proudem a napětím při vysoké vodivosti dosahující 50–120 pS lineární (209). Kanál je propustný pro ionty Cl^- , méně pro skupinu SO_4^{2-} , a neprostupný pro glukonát (107).

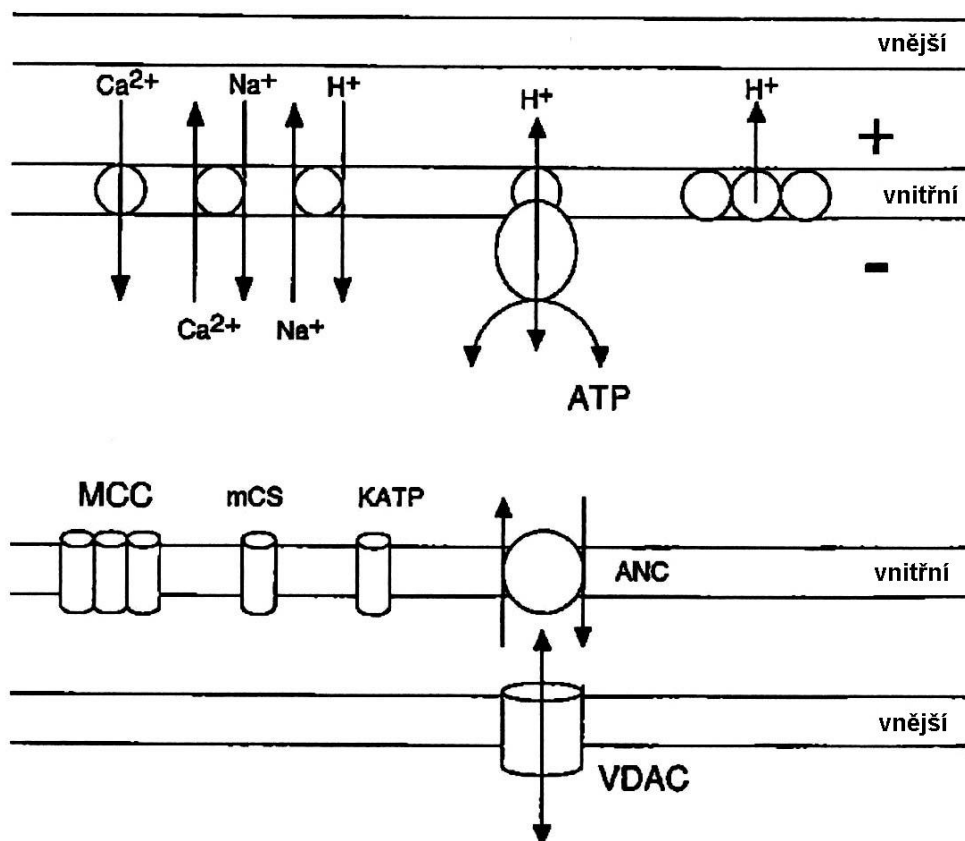
2.1.2.2 Mitochondriální kanály

V mitochondriích dochází k přenosu energie z různých substrátů na ATP pomocí oxidace. Jelikož se při vzniku protonového gradientu uplatňuje jedna z klíčových reakcí, předpokládá se, že vnitřní membrána mitochondrií je relativně neprostupná, přičemž její prostupnost je do značné míry regulována elektroneutralními přenašeči a uniportery.

A) VNĚJŠÍ MITOCHONDRIÁLNÍ MEMBRÁNA. Prostupnost mitochondriální membrány byla studována poté, co byly izolovány proteinové frakce a vloženy do umělých lipidových dvojvrstev. Byly zjištěny dva různé typy kanálů (176). Jeden z nich je kation-selektivní a jeho funkce je nejasná. Jelikož ho blokují zacílené peptidy, může být důležitý při transportu proteinů (171). Druhý typ představuje kanál, který je závislý na napětí a propustný pro anionty, zejména ADP a ATP (obr. 14). Spolu s přenašečem adenin nukleotidů ve vnitřní membráně hraje důležitou úlohu při přenosu ATP a ADP mezi cytoplazmou a mitochondriální matrix.

Aniontový kanál závislý na napětí. Po vložení do umělé lipidové membrány vykazuje aniontový kanál závislý na napětí (tzv. „voltage-dependent anion channel“ – VDAC) maximální hodnotu P_o při nulovém E_m , která klesá, nikoli však na nulu po aplikaci pozitivního nebo negativního napěťového gradientu. Zároveň se vodivost posouvá směrem k „podstavu“ a kanál mění svou selektivitu – stává se propustnější pro kationty. Otázkou, která se nabízí, je, zda tento typ závislosti na napětí má nějaký vliv na funkci kanálu. Ačkoli se přímá měření potenciálového gradientu na vnější membráně neprováděla, obecně se přepokládá existence Donnanova potenciálu, a to na základě přítomnosti rozdílů v koncentraci velkých nabitých koloidů mezi cytoplazmou a prostorem mezi membránami. V důsledku fosforylace a vazby Ca^{2+} (v průběhu kontraktilního cyklu) může docházet ke změně tohoto potenciálového gradientu (228). Prostor mezi membránami obsahuje metabolické enzymy, jako adenylátcyklázu, kreatininkinázu, nukleosid-difosfátkinázu a deoxyribonukleázu.

Napěťové vrátkování (tzv. „voltage gating“) je modulován modulačním proteinem a koncentrací NADH. Citlivost k napětí se zvyšuje za přítomnosti modulačního proteinu (126), který je umístěn v prostoru mezi vnitřní a vnější membránou. Vyšší závislost na napětí znamená, že se kanál uzavírá pro menší změny potenciálu (0–5 mV) a zároveň se stává méně propustným pro anionty (ATP, ADP). Napěťové vrátkování kanálu je dále regulováno mikromolárními cytoplazmatickými koncentracemi NADH, které fungují jako ligand pro tento kanál (274). Odhaduje se, že fluktuace NADH by mohly vést k šestinásobné změně propustnosti pro adenin nukleotidy, což by mělo za následek změnu intenzity buněčné respirace (170). VDAC je proto nutné považovat za indikátor glykolýzy, protože cytoplazmatický NADH je stanoven především na základě glykolýzy. Uzavření VDAC může představovat mechanismus, jehož pomocí glykolýza inhibuje oxidativní fosforylaci (Crabtreeho efekt). V této souvislosti je jistě zajímavé, že struktura VDAC váže hexokinázu a glycerolkinázu.



Obr. 14 Iontové kanály a nosiče ve vnějších a vnitřních mitochondriálních Membránách (176)

ANC – adeninový nukleonový nosič

VDAC – napět'ově závislý aniontový kanál

B) VNITŘNÍ MEMBRÁNA. Studium propustnosti vnitřní membrány (156) umožnilo použití tzv. metody „patch-clamp“ na mitoplastech (232). Mitoplasty jsou mitochondrie zbavené vnější membrány. Za fyziologických podmínek je vnitřní membrána málo propustná. Při ischemii však může dojít k oslabení nebo úplnému odstranění bariéry pro propustnost otevřením velkých kanálů. Dosud bylo popsáno pět různých kanálů (obr. 14): 1) mnohočetně vodivý kanál (multiple-conductance channel – MCC) nebo megakanál propustný pro velké kationty a anionty, 2) ATP-dependentní draslíkový kanál, 3) mírně anion-selektivní kanál o 107 pS známý pod názvem mCS kanál (mitochondriální centopikosiemensový kanál) a dva kanály, které se aktivují, když dojde k expozici matrix velmi alkalickému prostředí: 4) kation-

selektivní kanál s vodivostí ve výši 12 pS a 5) anion-selektivní kanál s vodivostí ve výši 45 pS.

I) MCC nebo mitochondriální komplex PTP (tzv. „permeability transition pore“).

A) Aktivace. Za normálních fyziologických podmínek je kanál uzavřen především v důsledku vysoké [ATP] a nízké $[Ca^{2+}]$. ATP je obvykle zapotřebí k udržení nízké celulární $[Ca^{2+}]$ a negativního mitochondriálního E_m (228). K aktivaci kanálu dochází na základě zvýšení intramitochondriální $[Ca^{2+}]$ v řádu mikromolů v kombinaci s nízkou [ATP] (66). Aktivaci podporuje acyl-CoA s dlouhým řetězcem (201), pro-oxidanty a dithiol oxidancia (tento účinek ruší disulfidová redukce), vysoký tlak O_2 v kombinaci s nízkou [ATP] a vysokou $[Ca^{2+}]$ a inhibuje H^+ , Mg^{2+} a imunosupresivum cyklosporin (237). Aktivace je také citlivá na preparáty, které se váží na benzodiazepinové receptory. Typicky dochází v průběhu aktivace ke stupňovitému zvyšování vodivosti, což je možná důsledkem toho, že se podjednotky na základě aktivace Ca^{2+} seskupují do velkého kanálu (237).

II) ATP-dependentní draslíkový kanál. ATP-dependentní K^+ kanál se podobá kanálům v cytoplazmatických membránách mnoha buněk (132). Má stejnou vodivost a stejný způsob aktivace. Otevírá se po snížení [ATP] pod určitou kritickou hodnotu. Je blokován mj. glybenklamidem a je citlivý na látky otevírající K^+ kanál. Otevírání kanálu usnadňuje PKC-dependentní fosforylace (218). Na rozdíl od kanálu cytoplazmatické membrány kardiomyocytů je tento kanál citlivý na diazoxid a připomíná spíše pankreatický kanál (96). Jeho role v mitochondriích není zcela jasná; jeho aktivace může vést ke stabilizaci mitochondriálního E_m , přičemž pak nedochází k aktivaci megakanálu. Předpokládá se, že má určitou úlohu v tzv. preconditioningu (218) a v regulaci objemu mitochondrií – při ischemii se mitochondrie zvětšují, přičemž otevřením kanálů s vysokou vodivostí mohou vyvolat eflux rozpuštěných látek a vést ke snížení svého objemu.

III) Aniontový kanál s vodivostí 107 pS neboli mCS kanál.

Aniontový kanál s vodivostí 107 pS neboli mCS kanál (232) je mírně anion-selektivní. Je aktivován při pozitivních hodnotách matrixového potenciálu, přičemž tato aktivace se zvýšenou pozitivitou exponenciálně roste. Selektivita pro anionty je nevýznamná ($P_{Cl}/P_K = 4,5$). Kanál není citlivý vůči pH, inhibují jej však oxidativní odpráhovače (uncouplers). Za normálních okolností je kanál proto uzavřen. Pokud jde o jeho funkci, byla předložena řada hypotéz: 1) jde o funkci odpráhovače (uncoupling protein) analogickou funkci v mitochondriích hnědých tukových buněk, 2) hraje roli v objemové homeostáze a 3) má funkci tzv. importního kanálu (import channel) pro proteiny a mitobiogenezi. 4) Nedávno byla navržena hypotéza (38), že funguje jako ochranný mechanismus proti poklesu potenciálu

v mitochondriích. Předpokládá se, že za fyziologických podmínek je jeho propustnost nízká, je však dostatečně vysoká na to, aby umožňovala iontům Cl^- dosáhnout pasivního rovnovážného stavu.

IV) *Alkalicky aktivované kanály*. Vystavíme-li matrixovou stranu mitoplastového preparátu velmi alkalickým roztokům, můžeme pozorovat dva kanály: jeden je kation-selektivní s vodivostí 15 pS a druhý je anion-selektivní s vodivostí 45 pS. Úloha těchto kanálů není známa.

2.1.3 Mezibuněčné iontové kanály (tzv. „gap junction channels“)

2.1.3.1. Úvod k mezerovým spojům

Za buněčnou povahu srdeční tkáně odpovídají mezerové spoje (gap junctions). Jejich vysoká vodivost a propustnost umožňuje rychlé vedení akčního potenciálu (tzv. „electrical coupling“) a účinný tok molekul nebo metabolitů o molekulární hmotnosti do 1,2 kDa z buňky do buňky (K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , cAMP, cGMP, IP_3) (tzv. „metabolic coupling“). V psím myokardu je každá buňka spojena s 11 jinými buňkami pomocí mezerových spojů (212). Pokud jde o vodivost mezi buňkami, byla publikována celá řada hodnot od 250 do 2.500 nS/buňku. Podle všeho pro normální vodivost akčních potenciálů mezi dvěma buňkami stačí přibližně 35 mezibuněčných iontových kanálů (257). Z toho je patrná jejich značná redundantnost. To je v rozporu s nedávnými zjištěními, že heterozygotní myši s nulovou mutací genu pro konexin (Cx)43 vykazují 45% snížení rychlosti vedení akčního potenciálu (103).

Distribuce mezerových spojů v normálním srdci není uniformní ani anizotropní (199). Mezerové spoje nacházíme téměř výlučně v interkalárních discích. Velké interkalární disky se nacházejí na okraji buněk, menší podél její delší strany. Malé množství se nachází u spojení mezi sinoatriálním uzlem a síní a u spojení mezi Purkyňovými vlákny a svalovými buňkami. Na základě těchto pozorování lze vysvětlit, proč může docházet ke kritickému snížení vedení v příčném směru nebo mezi sinoatriálním uzlem a komorou či mezi Purkyňovým systémem a svalovými buňkami v komoře. V kulturách je počet spojů nižší, což vede k pomalejšímu vedení akčního potenciálu a k nepřítomnosti propagovaných vln Ca^{2+} .

2.1.3.2. Vytváření mezerových spojů a strukturální otázky

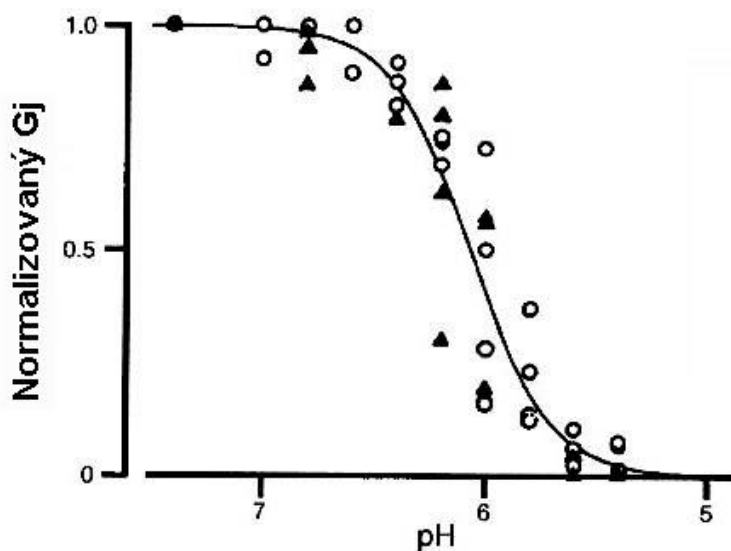
Vznik mezerových spojů lze navodit tak, že dvě samostatné buňky přiblížíme těsně k sobě (244). V cytoplazmatické membráně se nacházejí určité prekurzory, z nichž po spárování buněk rychle vznikají mezibuněčné kanály. Pomocí analýzy provedené na základě různých biofyzikálních metod bylo prokázáno, že se kanály odpovědné za vysokou vodivost membrány mezerového spoje skládají ze dvou hexamerů molekuly konexonu (tzv. „connexons“ nebo „hemichannels“) ve dvou vzájemně se dotýkajících buňkách (235). Každý konexon je tvořen šesti polypeptidovými podjednotkami čili konexiny. Podjednotky vzniklé na základě různých genů mají odlišnou molekulární hmotnost dosahující hodnot mezi 26 a 50 kDa a vodivost mezi 40 a 160 pS. V srdeční tkáni existují tři konexiny: Cx40, Cx43 a Cx45. Nacházejí se v různých místech a mají odlišnou funkční charakteristiku. Nejvíce zastoupen je konexin Cx43. Konexin 40 se nachází převážně v síních, nodální tkáni a v Purkyňově systému (143). V kultivovaných kardiomyocytech krys je obrat konexinu Cx43 a Cx45 poměrně vysoký (2–3 h).

Mezibuněčný iontový kanál se otevírá pomocí dvou důležitých mechanismů nazývaných chemické a napět'ové vrátkování (tzv. „gating“).

2.1.3.3 Chemické a napět'ové vrátkování

A) CHEMICKÉ VRÁTKOVÁNÍ POMOCÍ PROTONŮ A VÁPŇÍKOVÝCH IONTŮ: POMALÝ PROCES. Protony vedou k uzavření MEZIBUNĚČNÝCH IONTOVÝCH kanálů (obr. 15). Předpokládá se, že se tak děje v důsledku inaktivace tzv. „ball“ neboli kulového receptoru: protony zvyšují pozitivní náboj receptorového místa, a umožňují tak vazbu negativně nabitého terminálu COOH a uzavření kanálového póru. Odstranění části koncové skupiny COOH vede k závažnému poklesu pH senzitivity.

Celkovou vodivost mezerového spoje snižuje také nárůst $[Ca^{2+}]$ (239). V pokusech, které provedli Noma a Tsuboi (195), byla za normálních podmínek pH prokázána poměrně vysoká senzitivita na blokování pomocí iontů Ca^{2+} ($pK_{Ca} = 6,6$ při pH 7,4), což znamená, že v průběhu normální kontrakce může být dosaženo koncentrace iontů Ca^{2+} dostatečné k uzavření kanálu. Jelikož při kontrakci k odpřažení (tzv. „uncoupling“) nedochází, domnívají se autoři, že toto odpřažení je poměrně pomalé nebo že je $[Ca^{2+}]$ mnohem nižší v kanálech spojů než na úrovni myosinu. V průběhu ischemie dochází k vyššímu nárůstu $[Ca^{2+}]$, který může indukovat odpřažení.



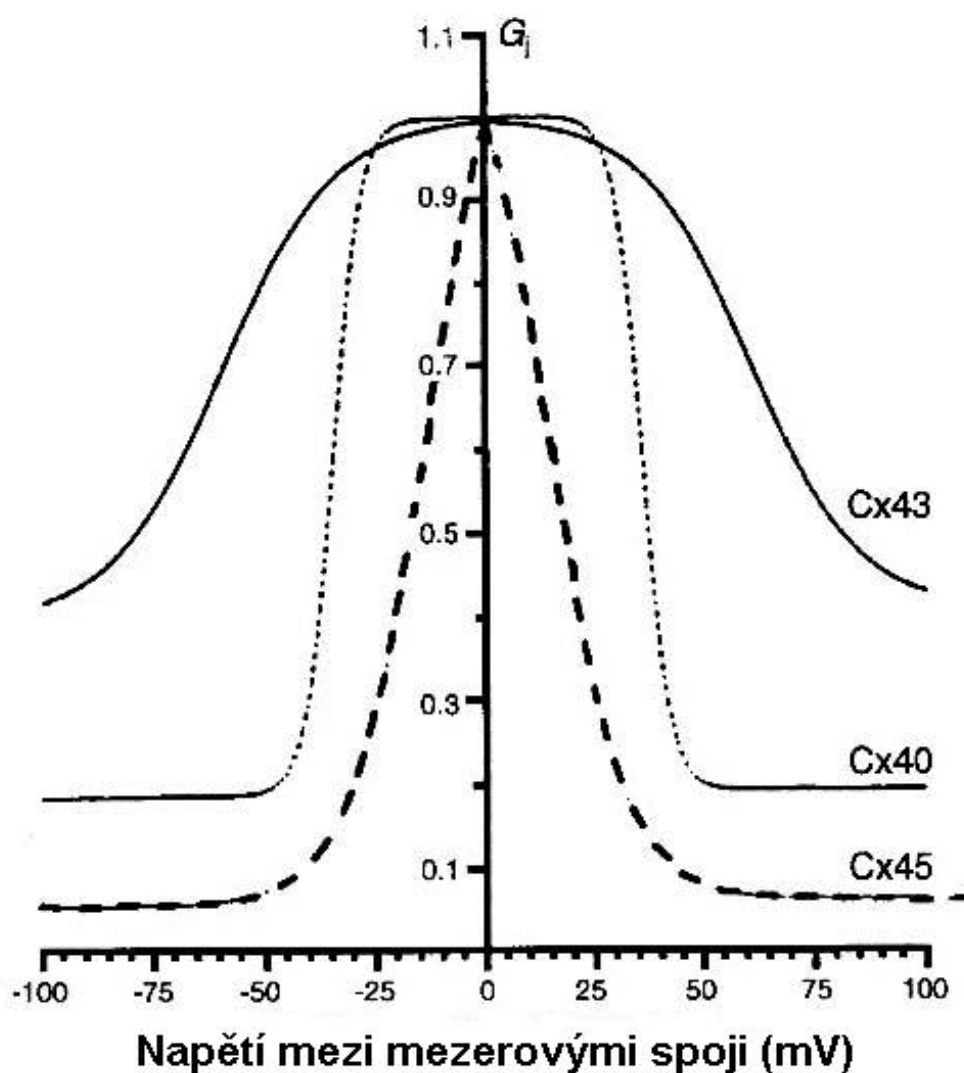
Obr. 15 Vztah mezi pH a vodivostí mezerových spojů (Gj) měřenou v srdečních buňkách morčete. Většina dat byla získána s absencí volného Ca^{2+} (o) (239)

B) NAPĚŤOVÉ VRÁTKOVÁNÍ: RYCHLÝ PROCES. Mezibuněčné iontové kanály v kardiomyocytech jsou citlivé na napětí mezi mezerovými spoji (189,252). Po aplikaci napěťového gradientu je okamžitý vztah mezi proudem na napětím lineární. Po čase se však kanály zavírají a tento vztah nabývá tvaru písmene S, což je proces, který můžeme srovnat s inaktivací (252) (obr. 16). Tento proces urychluje odpřažení při ischemii.

Na molekulární úrovni jsou aminokyseliny na terminálu NH_2 nebo blízko něho a na rozhraní M1/E1 součástí nabitého komplexu, a mohou proto působit jako napěťový senzor (247). Získané údaje lze interpretovat tak, že každá vrátka (hradlo) tvořená šesti konexiny odpovídají na působící napětí nezávisle. Pomocí chimér byly vytvořeny spoje s různými časovými a napěťovými vrátkovacími schopnostmi; tímto způsobem lze dosáhnout usměrnění proudu (rektifikace), na jedné straně nezávisle na napětí a na druhé straně s uzavřením kanálu po aplikaci určitých vysokých polarit. Fenomén, k němuž dochází při postižení části srdeční tkáně lze vysvětlit na základě závislosti na napětí mezi spoji a účinkem iontů Ca^{2+} . V průběhu

ischemie je tento proces užitečný z hlediska izolace ischemických od životaschopných funkčních buněk. Zároveň však může být arytmogenní.

V mezibuněčných iontových kanálech nativních kardiomyocytů snížení vodivosti těchto spojů po snížení transmembránového napětí ještě prokázáno nebylo, pokud však existuje, mohlo by do určité míry vysvětlovat odpřažení buněk v případě ischemického zvýšení $[K^+]_o$ (146).



Obr. 16 Napěťová citlivost srdečních koexinů. Citlivost je rozdílná pro různé koexiny (Cx) (252)

2.1.3.4 Propustnost

Mezerové spoje vykazují vysokou propustnost, přičemž propouštějí látky s molekulární hmotností do 1 kDa, včetně IP_3 a cAMP (244). Vodivost jednoho kanálu je v případě TEA a tetrabutylamoniuma podstatně snížena. Iontový poloměr těchto molekul dosahuje $\approx 12\text{\AA}$. Tento rozměr tak může být blízko hraničního průměru póru. Ionty kalcia procházejí snadno, propagace spontánních vln iontů Ca^{2+} , k nimž dochází za podmínek zvýšené koncentrace Ca^{2+} , je však poměrně vzácná (dochází k ní s pravděpodobností 0,15) (166).

Hodnoty vodivosti jednoho kanálu kolísají. Tato variabilita může být spojena s relativní expresí tří zmíněných konexinů, stavem fosforylace a napětím (188). Konexin Cx43 má vodivost 45–100 pS v závislosti na stavu fosforylace, je stejně propustný pro anionty i kationty, vysoce propustný pro barviva, k transjunkčnímu napětí však citlivý není. Konexin Cx40 vykazuje vodivost 120–160 pS a má asi pětikrát vyšší prostupnost pro kationty než pro anionty. Konexin Cx45 má nižší vodivost (30 pS), přičemž má omezenou propustnost pro anionty a barviva. Kromě toho je velmi citlivý na změnu napětí (143).

2.2 Elektrické změny a arytmie na buněčné úrovni

2.2.1 Hlavní mechanismus vzniku arytmií

Na úvod by bylo vhodné se nejdříve věnovat všeobecnému procesu vzniku arytmií. Mezi základní mechanismy jejich vzniku patří automacie uvnitř a mimo SA uzlu, spuštěná aktivita a reentrantní mechanismus neboli mechanismus návratného vzruchu.

A) AUTOMACIE V SA UZLU. Normální spontánní aktivita v SA uzlu je výsledkem spolupráce mezi řadou časově závislých proudů [I_{Kr} , I_{f} , I_{CaL} , I_{CaT} , I_{Na} , (40)] a časově nezávislých proudů [I_{KACH} , I_{KATP} (109), pumpy $I_{\text{Na, K}}$ (214), proudů pozadí I_{Na} a I_{st} (105)]. Časná diastolická depolarizace je dána především aktivací I_{f} a deaktivací I_{K} . Deaktivace I_{K} v počáteční fázi diastolické depolarizace byla zaznamenána v celých buňkách (136,196) i na úrovni jednotlivých kanálů (245). Později se v průběhu diastoly dostává ke slovu I_{Ca}

prostřednictvím kanálů typu T a L. Více na okraji SA uzlu hraje místo I_{Ca} hlavní úlohu I_{Na} (158).

Spontánní aktivitu moduluje stimulace adrenergických a muskarinových receptorů a inhibice metabolismu. Stimulace β -receptorů vede k vzestupu srdeční frekvence na základě posunu aktivační křivky pro I_f směrem k pozitivním hodnotám (51) za současného zvýšení proudu I_{CaL} (51) a I_{st} (105), které působí přímo na zvýšení míry depolarizace. Zvýšení proudu I_{Ca} způsobuje posun plató směrem k depolarizaci, což vede ke zvýšené aktivaci I_{Kr} a I_{Ks} . I_{Ks} je dále zvýšeno na základě fosforylace, která závisí na β -receptorech (251). Všechny tyto změny vedou ke zkrácení akčního potenciálu či doby trvání systoly, a tím ke zvýšení tepové frekvence.

Stimulace muskarinových receptorů má na srdeční frekvenci opačný účinek: dochází ke specifické aktivaci I_{KACH} , přičemž většina proudů modulovaných β -receptory se mění v opačném směru. Relativní úloha poklesu I_f a vzestupu I_{KACH} je stále předmětem diskuze (50, 72). Proud I_f je citlivější na ACh než proud I_{KACH} . In vitro je kanál KACH aktivován pouze za vysokých koncentrací ACh (72). To, že kanál KACH hraje určitou roli, však vyplývá z pozorování, že částečný blok proudu pomocí Ba^{2+} snižuje také chronotropní účinek ACh v SA uzlu (50).

Inhibice metabolismu působí proti pacemakerové aktivitě na základě aktivace proudu I_{KATP} . Tento proud je přítomen v SA uzlu, i když v daleko menší míře než ve ventrikulárních buňkách. Když však vezmeme v úvahu vstupní odpor SA uzlu, může mít aktivace pouze omezeného množství kanálů dramatické důsledky na míru diastolické depolarizace a délku akčního potenciálu (109).

Pacemakerová aktivita SA uzlu může být narušena a vykazovat abnormálně pomalou či příliš vysokou míru depolarizace. Při ischemii arytmiím často předcházejí změny tepové frekvence. Tyto změny vznikají většinou v důsledku neurogenní (parasymptické a sympatické) či hormonální stimulace, je však také možné, že inhibice metabolismu vede k přímé modulaci iontových proudů.

B) AUTOMACIE MIMO SA UZEL. Spontánní depolarizace mimo SA uzel může být způsobena aktivací proudu I_f , pomalým uvolňováním vápníkových iontů ze sarkoplazmatického retikula, aktivací výměnného proudu sodných a vápníkových iontů, aktivací proudů citlivých na prodloužení buňky, poškozením tkáně a zkratovými proudy.

Pacemakerovou aktivitu založenou na aktivaci I_f pozorujeme v AV uzlu (159) a v Purkyňových vláknech (54). Proud I_f je přítomen rovněž v atriálních (273) a ventrikulárních buňkách (61). Ve ventrikulárních buňkách dochází k aktivaci za poměrně negativních hodnot

potenciálu (268). Za přítomnosti katecholaminů či po dediferenciaci se však aktivační křivka posunuje směrem k pozitivnějším hodnotám, a k aktivaci tak může dojít při normálních diastolických potenciálech (83). V Purkyněho vláknech, atriálních a ventrikulárních buňkách vede diastolická depolarizace v konečném důsledku k aktivaci I_{Na} a ke vzniku šířícího se akčního potenciálu. V konečné fázi diastolické depolarizace dochází k poklesu I_{K1} v důsledku rektifikace směrem do buňky, zatímco vedení sodíkových iontů se regenerativním způsobem zvyšuje. Oba tyto jevy odpovídají za exponenciální zvýšení při depolarizaci.

V buňkách přetížených vápníkovými ionty pomalé zvyšuje spontánní uvolňování Ca^{2+} ze sarkoplazmatického retikula, k němuž dochází v průběhu systoly, množství volného $[Ca^{2+}]$ v cytoplazmě a vede ke stimulaci výměníku Na^+ / Ca^{2+} , I_{NSC} a I_{Cl} . Všechny tyto změny způsobují pomalou depolarizaci buňky či zvyšují míru pozdní diastolické depolarizace v pomocných pacemakerových útvarech (79).

Depolarizace, která je dostatečně významná na to, aby dosáhla hraničních hodnot a vyvolala systolu, může být způsobena také protažením neaktivních buněk a aktivací kanálů citlivých na tyto změny objemu buňky (146).

Automacie navozená depolarizací může vznikat dále v hraniční oblasti infarktu. Poškození tkáně či zkratový proud (129) může vést k diastolické depolarizaci, která dosahuje hraničních hodnot. Po spuštění může tato rytmická aktivita přetrvávat. Časově závislá diastolická depolarizace vzniká v důsledku deaktivace proudu I_{Kr} a I_{Ks} , snížení I_{K1} („inward rectification“) a aktivace I_{Na} (145).

AV uzel, Purkyněho vlákna, atriální a ventrikulární buňky mohou hrát roli při vzniku raných arytmií a vzniku a udržení pozdějších arytmií. Je důležité poznamenat, že ektopické ložisko nepovede nutně ke stimulaci celého srdce. Šíření arytmií závisí na kritické velikosti ložiska abnormální automacie (velikost a počet buněk) a na jejich vazbě na vedlejší buňky (249). Zapojení dalších buněk je možné pouze v rámci vedení mezi vazbami. Míra tohoto zapojení se mění v závislosti na změně $[K^+]_o$.

C) SPUŠTĚNÁ AKTIVITA. Na rozdíl od automacie je spuštěná aktivita charakterizována nutnou existencí vnějšího stimulu. Rozlišujeme dva typy spuštěné aktivity: EAD a DAD.

1) EAD. Repolarizace v průběhu fáze plató a fáze 3 akčního potenciálu má obvykle hladký lineární průběh. EAD (časná sekundární depolarizace) je sekundární depolarizace, která vzniká ve fázi plató nebo fázi konečné repolarizace (161). Důležitá je funkce dvou iontových mechanismů: skutečného regenerativního zvýšení vedení vápníkových kanálů typu L nebo rychlé přechodné aktivace výměnného proudu mezi Na^+ a Ca^{2+} v důsledku

sekundárního uvolňování vápníkových iontů ze sarkoplazmatického retikula. Tyto dva mechanismy se vzájemně nevylučují.

1) Je-li repolarizace v průběhu fáze plató dostatečně pomalá, může se po zotavení z napěťově závislé inaktivace indukované vápníkovými ionty I_{Ks} reaktivovat (122). Zotavení z napěťově závislé inaktivace a následná reaktivace je možná v poměrně úzkém napěťovém rozpětí, které odpovídá oknu vytvořeném na základě překrývání aktivační a inaktivační křivky. Zotavení z inaktivace navozené vápníkovými ionty, které pozorujeme ve fázi plató akčního potenciálu, je rychlé a přímo produkuje tok iontů směrem do buňky (229). Míru zotavení z inaktivace navozené vápníkovými ionty určuje aktivita výměníku Na^+ / Ca^{2+} v cytoplazmatické membráně a aktivita Ca^{2+} -ATPázy v sarkoplazmatickém retikulu. Jelikož není omezena na „window“ potenciály, nýbrž se týká široké řady potenciálů, je v konečném důsledku důležitější než napěťově závislá reaktivace.

Zpomalení repolarizačního procesu je výhodné z hlediska reaktivace I_{Ca} a vzniku EAD. Snížení míry repolarizace s případnou současnou stimulací I_{Ca} se uvádí jako jeden z běžných faktorů vedoucích ke vzniku EAD, mezi něž patří i blok proudu K^+ působením extracelulárního Cs^+ (93), léky, stimulace α -receptorů nebo acidóza, zvýšení proudu I_{Na} směrem dovnitř působením veratridinu či izoproterenolu, zvýšení I_{Ca} směrem dovnitř působením BAY K 8644 či izoproterenolu (481) a existence zkratového proudu vzniklá na základě vazby s depolarizovanými buňkami. Platí však také opak: vysoká míra repolarizace působí proti vzniku EAD: frekvence stimulace (203), vysoká $[K^+]_o$, ACh, lidokain nebo TTX a blok vápníkového kanálu.

2) Druhým procesem důležitým z hlediska vzniku EAD je aktivace výměnného proudu mezi Na^+ / Ca^{2+} , k němuž dochází po uvolnění vápníkových iontů ze sarkoplazmatického retikula. Obvykle se toto uvolňování omezuje na počáteční fázi systoly. Za podmínek zvýšené koncentrace vápníkových iontů však dochází ke zvýšení zisku systému, přičemž v pozdějších fázích plató nebo ve fázi konečné repolarizace může dojít k jejich druhotnému spontánnímu uvolňování. V průběhu zotavování z anoxie byly spolu s DAD měřeny hodnoty EAD (42). Pravděpodobnost vzniku EAD ve 3. fázi či v průběhu konečné repolarizace je vyšší při zvýšené koncentraci Ca^{2+} (203). V Purkyněho vlákních morčete a psa byl vznik EAD, k němuž došlo na základě přidání $[Cs^+]_o$, podpořen na základě předchozí zvýšené koncentrace („preloading“) Ca^{2+} ; přidání ryanodinu vznik EAD blokuje (203). Pokud dojde ke vzniku EAD ve 3. fázi, může tato nadbytečná depolarizace znovu aktivovat vápníkový kanál typu T, příp. rychlý sodíkový kanál a způsobit šíření extrasystoly. Zároveň může rektifikace I_{K1} směrem dovnitř působit jako posilující faktor.

II) *DAD*. V případě pozdní druhotné depolarizace (DAD) se jedná o přechodnou depolarizaci, která vzniká na základě předchozího akčního potenciálu. Hlavním proudem, který odpovídá za vznik DAD, je složený proud, který se nazývá přechodný depolarizující proud (tzv. „transient inward current“). Ke vzniku extrasystoly dochází, je-li depolarizace dostatečně vysoká na to, aby dosáhla hranice regenerativního zvýšení vodivosti pro sodíkové ionty. Tato situace se může cyklicky opakovat, a vést tak ke vzniku řady po sobě následujících akčních potenciálů. Zvýšená koncentrace vápníkových iontů podporuje vznik DAD. Vznik pozdní depolarizace byla poprvé popsán při intoxikaci digitálem (85,144), může být však vyvolán také superfuzí roztoky obsahujícími zvýšenou $[Ca^{2+}]$ a sníženou $[K^+]$, roztoky obsahujícími nízkou $[Na^+]$, vysokou koncentraci katecholaminů, agonisty vápníkových kanálů, opakovanou stimulací (138) nebo prodloužením buňky (112,255). Ve všech těchto případech dochází ke zvýšení koncentrace vápníkových iontů na základě bloku aktivní sodíkové pumpy, sníženého odtoku vápníkových iontů z buňky, příp. zvýšení pasivního přítoku Ca^{2+} a Na^+ směrem do buňky. Při přetížení sarkoplazmatického retikula vápníkovými ionty může dojít k jejich spontánnímu uvolňování.

Vznik DAD závisí na míře E_m po repolarizaci. Amplituda DAD a tranzientního proudu směrem do buňky je nejvyšší při hodnotách kolem -60 mV a nejnižší při pozitivnějších a negativnějších hodnotách (144). V závislosti na preparátu, živočišném druhu či experimentálních podmínkách se toho účastní tři iontové proudy: výměnný proud Na^+/Ca^{2+} , intracelulární NSC proud indukovaný vápníkovými ionty či prodloužením buňky a intracelulární chloridový proud indukovaný vápníkovými ionty (108). Všechny tři systémy těchto proudů jsou aktivovány zvýšením $[Ca^{2+}]_i$ a při hyperpolarizovaných potenciálech nesou proud směrem do buňky. Hodnota E_m proudu NSC a chloridového proudu se blíží 0 mV. Pokud jde o výměník Na^+/Ca^{2+} , nepozorujeme jeho zřetelné obrácení, jelikož $[Ca^{2+}]_i$ zvýšená po uvolnění iontů slouží jako spouštěč, ale zároveň jako substrát. Fázové zvýšení $[Ca^{2+}]_i$ může pouze zvýšit dočasný depolarizující proud. V preparátech s vysokou hustotou tohoto výměníku a zvýšenou $[Ca^{2+}]_i$ v cytosolu se může dočasný proud směrem do buňky změnit na tzv. plíživý proud („creep current“), který signalizuje zvýšenou výměnu Na^+/Ca^{2+} následující po repolarizaci. V preparátech obsahujících Purkyňova buňky ovce (56) se následné kontrakce významným způsobem časově shodují se vznikem dočasného proudu směrem do buňky, nikoli však s velikostí či polaritou tohoto proudu, což dokládá, že primárně dochází k uvolňování Ca^{2+} ze sarkoplazmatického retikula.

D) MECHANIZMUS RE-ENTRY. Při mechanismu reentry impulz putuje po kruhové dráze a místo toho, aby stejně jako normální impulz vymizel, reexcituje buňky, které již byly

stimulovány (261). Tato dráha může být stálá (tzv. „ordered reentry“) nebo se může s ohledem na velikost a místo výskytu lišit (tzv. „random reentry“); může mít malou mikroskopickou velikost či makroskopickou délku. Ke vzniku této dráhy může dojít na anatomickém podkladu (abnormální spojení mezi tkání ouška síně a komor, ústím cév, bifurkací Purkyňova systému a spojením s komorovou stěnou). Přitom musejí být splněny dvě základní podmínky: 1) přítomnost jednosměrného bloku vedení vzruchu v určitém místě této dráhy a 2) kombinace pomalého vedení a krátké refrakterní periody ve zbývajících částech dráhy.

První podmínka jednosměrného vedení je nezbytná k tomu, aby se impuls mohl vrátit a pokračovat ve své propagaci. V literatuře se objevují různé možnosti vzniku tohoto jednosměrného bloku. Je nutné si uvědomit, že po každém akčním potenciálu následuje tzv. kritické časové (a napěťové) okno, v jehož průběhu může přebytečný impuls vést ke vzniku jednosměrného vedení. Stimulace v průběhu tohoto citlivého období vede k zablokování vedení v antegrádním směru, jelikož buňky jsou stále refrakterní, zatímco vedení Na^+ postoupilo natolik, že umožňuje vedení v retrográdním směru (221). Disperze trvání akčního potenciálu zvyšuje pravděpodobnost vzniku jednosměrného vedení. K disperzi obvykle dochází v transmuralním směru (74), existuje však také mezi srdečním hrotem, septem a volnou stěnou (99) a mezi pravou a levou komorou (248). Vzhledem k abnormálnímu vzestupu I_{to} , příp. snížení I_{Ca} může chybět 2. fáze subepikardiálního akčního potenciálu, což může vést k časné plné repolarizaci a výrazné transmuralní disperzi. Typ reentrantního mechanismu, který na základě toho vzniká, se nazývá reentry 2. fáze (173). Disperze se může kromě toho měnit v čase: alternans vlna ST-T je symptomatický a pojí se s vyšší tendencí vzniku fibrilace (101).

Vedení vzruchu není ani za normálních podmínek zdaleka uniformní. Je rychlejší v longitudinálním než v transverzálním směru – tkáň je anizotropní (234). Přítomnost anizotropie vede ke vzniku reentrantního mechanismu dokonce za přítomnosti uniformní efektivní refrakterní periody (ERP). Disperzi refrakternosti a anizotropii je potřeba považovat za dynamické parametry. Jak teoretické, tak i experimentální studie prokázaly, že přechodná místní nehomogenita refrakternosti může postačovat ke vzniku trvalého spirálovitého reentrantního mechanismu v normálním myokardu (hovoříme o tzv. spirálovitých vlnách) (69).

Druhá podmínka má souvislost k délkou dráhy reentry. Vedení vzruchu musí být dostatečně pomalé a refrakterní perioda dostatečně krátká na to, aby nedošlo k tomu, že impuls zasáhne tkáň, která je stále ještě refrakterní. Součin ERP a rychlosti vedení vzruchu či vlnové délky musí být menší než délka dráhy mechanismu reentry. Rychlost vedení vzruchu

stanovujeme na základě amplitudy a míry zvýšení akčního potenciálu a také na základě membránové a štěrbinové rezistence. Pokles excitability a odpřažení buněk však má na faktor bezpečnosti vedení jiný účinek (222). Na základě teoretické studie bylo zjištěno, že rychlost vedení vzruchu se může před selháním snížit daleko více, pokud je toto snížení způsobeno odpřažením. Za těchto podmínek hraje pro zachování vedení hlavní roli I_{Ca} , z čehož vyplývá možnost, že se v ischemických podmínkách uplatňují akční potenciály zprostředkované vápníkovými ionty.

2.2.2 Závěrečné poznámky a další perspektiva výzkumu

Budoucí výzkum by se měl zaměřit na to, jak vyplnit mezery v našich znalostech v oblasti struktury a funkce kardiálních kanálů a jejich role na celulární a tkáňové úrovni. Nedávno byla pomocí RTG krystalizovaného klonu kanálu zjištěna trojrozměrná struktura draslíkového kanálu (73). Je zřejmé, že podobné metody je nutné použít k tomu, abychom pochopili problematiku selektivity vápníkových, sodíkových, chloridových a dalších kanálů. Stejný přístup povede nejen ke strukturální analýze vlastností kanálů z hlediska propustnosti, ale také jejich vrátkovacích vlastností a kinetiky. Není pochyb o tom, že studie mutací budou i nadále vést k odhalování dalších podrobností týkajících se biofyzikálních vlastností různých kanálů. V případě některých aniontových a NSC kanálů, kanálů přítomných v intracelulárních organelách, zejména kanálu sarkoplazmatického retikula, mitochondriálních VDAC, megakanálu, kanálu KATP a kanálů buněčného jádra jsou zapotřebí další informace. Studium těchto kanálů je omezeno na několik badatelských skupin a bylo by potřeba jej rozšířit. V případě některých kanálů je známo velké množství molekulárních izoform, jejich integrační funkce však vyžaduje další zkoumání. Existuje naděje, že studium těchto kanálů otevře nové terapeutické možnosti, zejména pro léčbu přetížení Ca^{2+} a arytmií.

Měli bychom se snažit lépe pochopit funkci různých kanálů na celulární a tkáňové úrovni. Existuje vážná potřeba integrační fyziologie, dalšího studie charakteristik akčního potenciálu a vedení vzruchu na tkáňové úrovni, a to za použití klasických mikroelektrod a nověji fluorescenčních metod, jejichž pomocí lze měřit hodnoty E_m . V této souvislosti můžeme doufat, že geneticky modifikované myší modely, u nichž jsou některé kanály vyřazeny z funkce či nahrazeny mutovanými kanály, budou představovat užitečné modely pro studium arytmií. Aritmie lze do určité míry studovat na buněčné úrovni, většina z nich, např. reentrantní arytmie, však vyžadují studium interakcí velkého počtu buněk. Pochopení těchto

fenoménů podpoří získání podrobných molekulárních informací v kvantitativních, teoretických modelech na orgánové úrovni a úrovni celých organismů. Jinými slovy je do fyziologie nutné včlenit molekulární biologii.

V blízké budoucnosti bychom se měli zaměřit na více aspektů chronické ischemie. Je jasné, že po akutní modulaci na základě iontových koncentrací a fosforylačně-defosforylačních mechanismů dochází v případě iontových kanálů k dlouhodobějším změnám. V současnosti byl na základě modelů atriální fibrilace (269) zjištěn pokles počtu proudů v důsledku snížení počtu funkčních kanálů.

3 ZHODNOCENÍ SOUČASNÉHO STAVU V AMBULANTNÍ DIAGNOSTICE EKG SIGNÁLU

3.1 Holterova monitorace

3.1.1 Definice

Holterovo monitorování je elektrokardiografická metoda umožňující zaznamenávat po 24 a více hodin elektrickou aktivitu srdce pacienta při jeho obvyklé denní činnosti. Metodou Holterova monitorování lze zjišťovat arytmie popř. ischemii myokardu. Tento typ monitorace poprvé popsal v roce 1961 Norman J. Holter, jenž je současně i konstruktérem prvního přístroje, a proto metoda i záznamový přístroj EKG nesou jeho jméno. Holterův monitorovací systém tvoří: Holterova EKG monitorovací jednotka (Holter rekordér), elektrody a bipolární svody s příslušnými kabely a vyhodnocovací počítač se specializovaným programovým vybavením.

3.1.2 Možnosti Holterovy monitorace

Monitorovací jednotky umožňují dva základní procesy:

1. *Kontinuální* (nepřerušované) monitorování – tzv. Holterovo monitorování.
2. *Intermitentní* (přerušovaný) záznam, jestliže se arytmie objevuje jen občas.

Ad 1) První generací byly jednoduché páskové systémy (zvané „reel-to-reel“). Stále častěji se následně začaly používat jednotky s magnetopáskovou pamětí, které dovolují věrný zápis celého elektrokardiogramu (2-3 kanály) po dobu 24-48 hodin. Jejich výhodou je možnost kontroly všech získaných dat. Analýza se děje automaticky prostřednictvím specializovaného programu a za kontroly operátora (tzv. „interaktivní software“).

- Vedle toho jsou časté moderní systémy, kde vlastní monitorovací jednotka („recorder“) je v podstatě mikropočítačem s různě velkou elektronickou pamětí, umožňující záznam dat a jejich předběžné vyhodnocování. Existuje celá řada systémů,

kteře se liší kapacitou paměti a tím i kvalitou záznamu a analýzy. Ještě modernější obsahují miniaturní pevný disk („hard disc“) a dovolují velmi věrný zápis EKG křivky. Jiné přístroje umožňují i analýzu tzv. pozdních potenciálů nebo dynamické vyhodnocování intervalů Q-T v čase.

Ad 2) Intermitentní záznam umožňuje řada systémů

- Jednoduché systémy dovolují záznam 1-2 kanálů elektrogramu po dobu 30-60 s po aktivaci přístroje pacientem (pouhé přiložení přístroje na hrudník).
- Složitější přístroje dovolují delší záznam v období okolo aktivace. Při použití hrudních elektrod (podobně jako při Holterově monitoraci) přístroj trvale nahrává do paměti smyčky záznam EKG a po aktivaci uloží do paměti určitou nastavenou periodu záznamu před aktivací a po ní.
- Většina systémů dovoluje po aktivaci i transtelefonní přenos záznamu do zdravotnického zařízení.
- Některé další systémy dovolují po aktivaci přímý transtelefonní přenos, aniž se záznam uloží do paměti.

3.2 Přístroje pro dlouhodobou monitoraci srdečního rytmu

Tabulka č.2

Diagnostická metoda	Výtěžnost metody v záchytu arytmie (%)
12-ti svodový EKG záznam	2 – 11
24 hodinová Holterova monitorace	2
Externí look zapisovač 10-ti denní	20
Implantabilní srdeční monitor	48 – 88

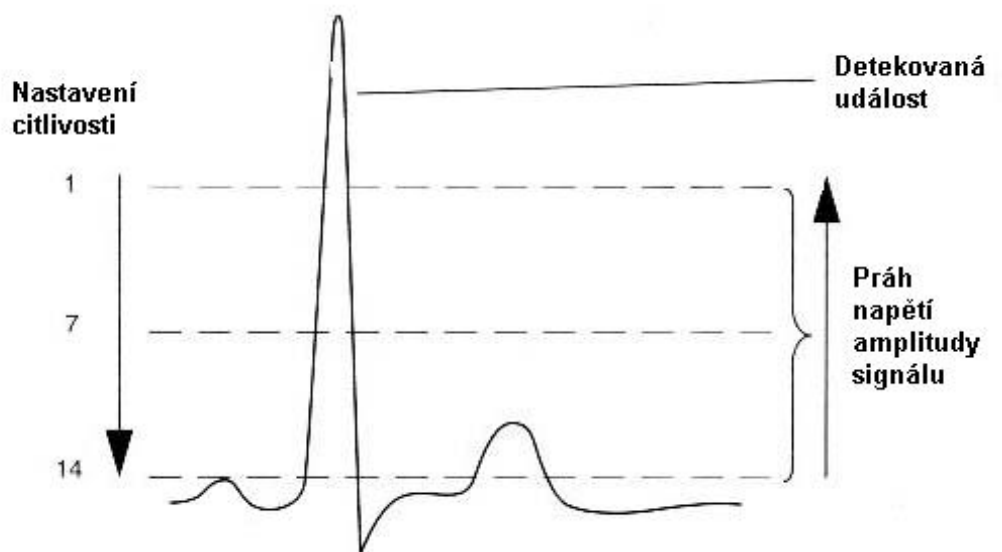
Jak je patrné z tabulky č.2 diagnostická výtěžnost klasické holterovské monitorace je i při opakovaných vyšetření poměrně neefektivní. O něco lepší se jeví výtěžnost externího loop zapisovače s monitorovací periodou do 10 dnů. I tak je pro tyto systémy popisován v řadě klinických studií významný únik informací vedoucí ke stanovení správné diagnózy. Kromě toho je pacient vždy zatížen užíváním poměrně nekomfortního systému, jak bylo popsáno v kapitole 3.1.2.

Z uvedených důvodů se pro dlouhodobou monitoraci s periodou do 2 let užíval v kardiologické praxi speciální implantát s komerčním označením REVEAL[®]PLUS (276). Tento implantát nese též označení ILR (Insertable Loop Recorder) a je navržen pro zachycení subkutánního elektrokardiogramu během symptomatických arytmiických episod. ILR umožňuje ukládání episod, které jsou automaticky detekované, i ty které jsou pacientem aktivované. Pro přístroje této generace bylo charakteristické analogové zpracování srdečních signálů. Z tohoto způsobu zpracování také vyplývá oblast použití v diagnostice zaznamenaných arytmií. Jedná se především o kategorie z oblasti synkopálních stavů, bradyarytmií a rychlých a velmi rychlých komorových tachykardií.

3.2.1 Záznamové zařízení ILR REVEAL[®] PLUS

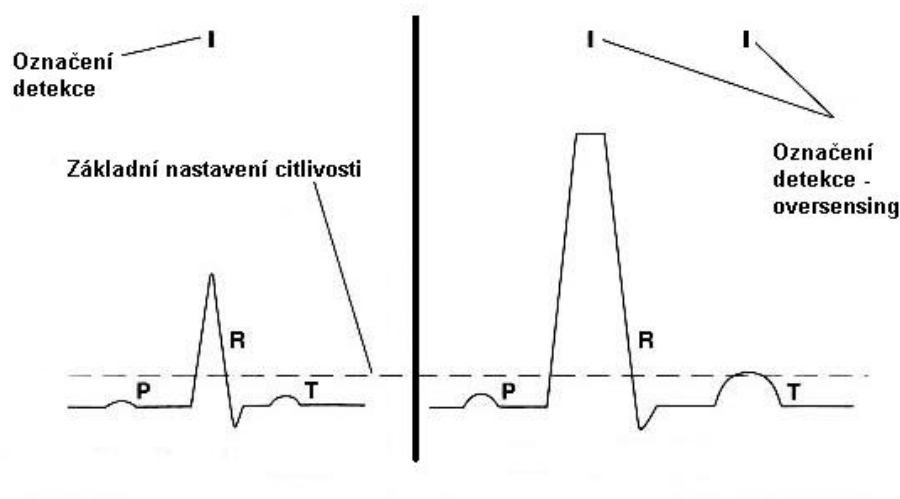
Srdeční monitor se implantuje do levé přední oblasti hrudníku tak, aby dvě elektrody umístěné na implantátu směřovaly směrem ke kůži. Místo s největším EKG signálem u této vývojové řady lze získat pouze orientačně na základě sejmutého povrchového signálu srdeční činnosti. Určitým předpokladem pro dobrou kvalitu získaného signálu je změření poměru R/T a R/P vlny. Doporučené poměry jsou 2:1 respektive 5:1. Další úpravy detekovaného signálu lze provádět až po vlastní implantaci přístroje.

Zesílení R-vlny lze provádět pouze v násobcích (2 – 8) základní amplitudy získané v místě vložení implantátu. Grafický záznam EKG signálu na výpisu z programátoru není označen kalibrovaným měřítkem zesílení. Tato nevýhoda se projeví v kroku nastavování senzitivity. Význam tohoto parametru demonstruje obr. 17. Správné nastavení citlivosti je pro



Obr. 17 Vztah nastavení sensitivity a prahu napětí amplitudy EKG signálu (276)

diagnostiku snímané srdeční aktivity velmi důležité. V případě, že je tento parametr nastaven nepřesně hrozí při vyhodnocování arytmií k jevu zvanému oversensing při němž dochází k nepřesnostem při stanovení srdeční frekvence.



Obr. 18 Vliv nastavení citlivosti na oversensing (276)

V levé části obr. 18 je správné nastavení sensingu na rozdíl od pravé strany, kde je patrna detekce, jak R-vlny, tak i T-vlny a tudíž je frekvence falešně dvojnásobná. Oversensing je způsoben několika příčinami:

- Změna amplitudy vlivem změny polohy implantátu
- Vliv myopotenciálů
- Malý poměr R/T nebo R/P vlny

Zásadní nevýhodou této generace implantabilních srdečních monitorů je nemožnost detekce síňové aktivity. Toto omezení vyplývá z popsaneho principu orientačního nastavování citlivosti pro záchyt akčního potenciálu srdce. Dalším důvodem je software, který není schopen analogový signál vyhodnotit s dostatečnou přesností a citlivostí.

Pro uvedené nedostatky systému REVEAL[®] PLUS se vývoj implantabilních srdečních monitorů orientoval na zcela nový systém s digitálním zpracováním detekovaného signálu, jehož vlastnosti budu posuzovat.

4 METODIKA KLINICKÝCH STUDIÍ

Jak bylo uvedeno v kapitole 1 analýzu akčního potenciálu srdeční činnosti jsem prováděl v rámci dvou multicentrických studií XPECT(278) a VISIT(279). Cílem těchto studií je otestovat vlastnosti koncepčně inovovaného systému implantabilních srdečních monitorů. Tento systém je založen na implantabilním srdečním monitoru pod označením REVEAL[®] XT jehož vlastnosti a způsob použití je popsán v následujících kapitolách.

4.1 Charakteristika systému REVEAL[®] XT

Implantabilní srdeční monitor Medtronic REVEAL[®] XT (obr. 19) je programovatelný přístroj, který nepřetržitě sleduje EKG pacienta a další fyziologické parametry (280). Zaznamenává informace o srdečním signálu na základě epizod aktivované pacientem nebo automaticky detekovanou arytmií. Kapacita paměti je rozdělena tak, že ukládá 22,5 min. záznamu aktivované pacientem a 27 min. automaticky detekovaných arytmií. Ty lze klasifikovat jako síňovou tachyarytmii/fibrilaci síní (AT/AF), bradyarytmii, asystolii nebo komorovou tachyarytmii rychlou či pomalou.

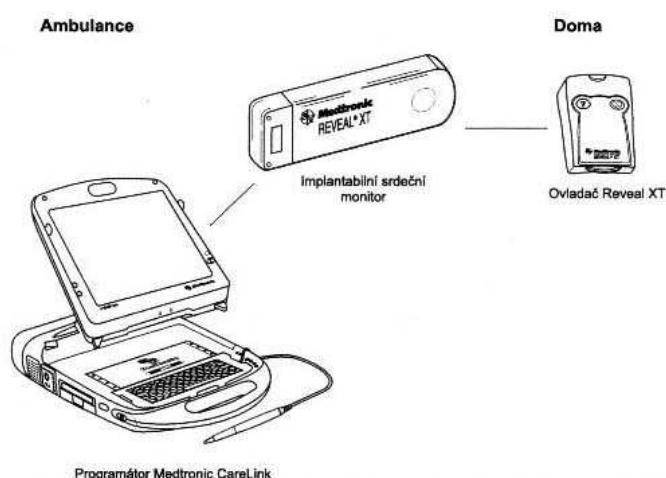


Obr. 19 **Monitor REVEAL[®] XT (277)**

V případě symptomatických epizod je implantát aktivován pacientem pomocí telemetrického ovladače (aktivátoru), který nosí pacient u sebe. Ovladač je vybaven funkcí ověření, která umožňuje pacientovi přístroj zkontrolovat a přijmout upozornění na výskyt arytmie nebo na změnu stavu implantátu. Nedílnou součástí systému je programátor sloužící pro nastavení přístroje REVEAL® XT k detekci arytmií a současně slouží pro analýzu zachycených epizod a tisk uložených informací. Kompletní systém představuje obr. 20. Další velkou inovací této generace implantabilních srdečních monitorů je možnost podstoupit vyšetření magnetickou rezonancí s implantovaným přístrojem.

4.1.1 Použití nástroje VECTOR CHECK

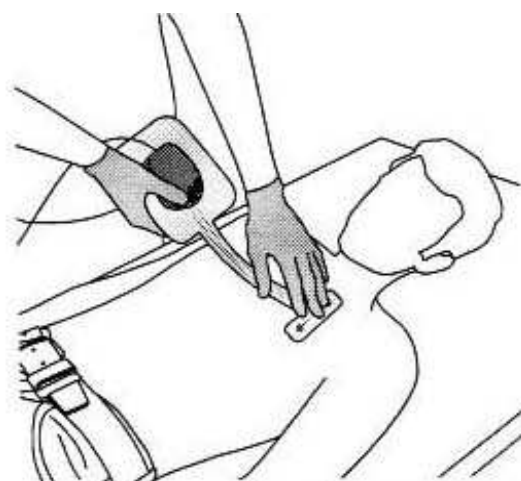
S přístrojem REVEAL® XT je dodáván zcela unikátní systém VECTOR CHECK, který slouží k usnadnění umístění implantátu. Tento nástroj pomáhá určit nejvhodnější místo implantace a nejvhodnější pozici přístroje a tím dát předpoklad spolehlivého snímání srdečního signálu. Tento krok je velmi důležitý, protože i mírné změny místa implantace nebo pozice přístroje mohou mít velký vliv na kvalitu signálu a amplitudy P- i R-vlny. Potvrzení či vyvrácení uvedené hypotézy je jedním z cílů studií XPECT a VISIT a postup testování tohoto parametru je uveden v kapitole 4.2 a 4.3. Analyzuje se kvalita a velikost signálu v závislosti na pozici implantátu a dále shoda signálu získaného systémem VECTOR CHECK a data získaná po implantaci z implantátu.



Obr. 20

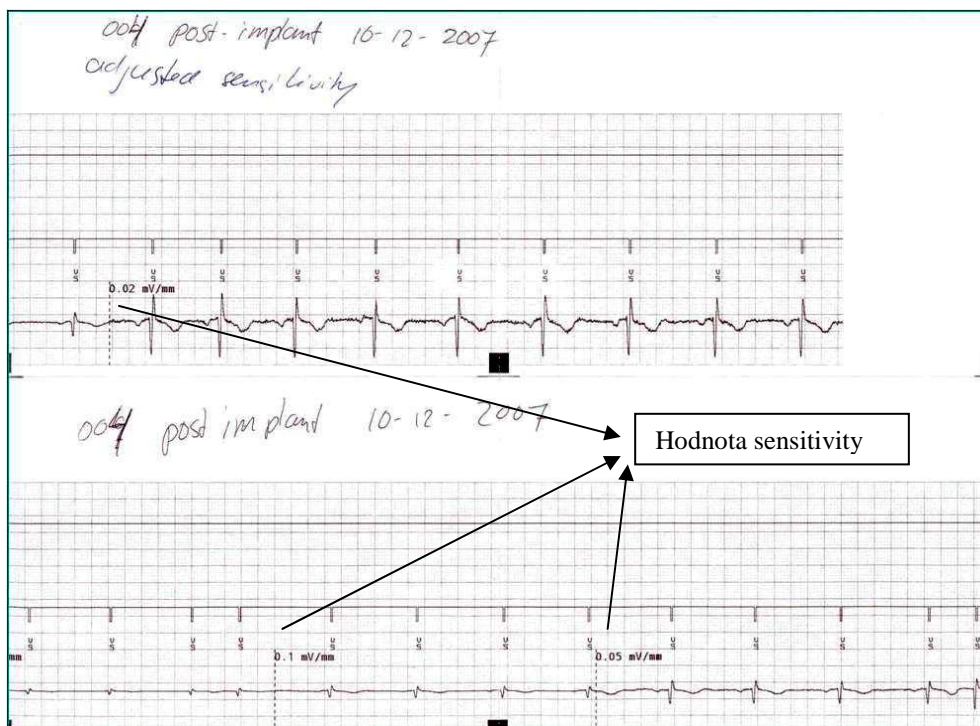
Prvky systému REVEAL® XT (277)

VECTOR CHECK je připojen k plastickému balení a umožňuje otestovat vlastnosti snímání u přístroje, který je dosud v plastickém balení. Vzhledem k tomu, že monitor REVEAL® XT není vyjmut ze sterilního obalu lze VECTOC CHECK použít v nesterilní zóně. Systém je vybaven 2 kontakty, které jsou od sebe vzdáleny přibližně 4 cm a tak odpovídají vzdálenosti kontaktů přístroje. Tyto kontakty systému VECTOR CHECK zajistí vodivé propojení s kontakty přístroje na jednom konci a s pokožkou pacienta na straně druhé, jak patrně z obr. 21. Pomocí programovací hlavy propojíme programátor a plastické pouzdro s uloženým implantátem a v tento okamžik již vidíme signál na monitoru programátoru. Nyní již můžeme detekovaný signál měřit, zapisovat a analyzovat vhodnost budoucí pozice implantátu.



Obr. 21 Nástroj VECTOR CHECK (277)

Pokud je naměřena dostatečná amplituda signálu můžeme označit místo implantace a přejít k vlastnímu výkonu. Pro kvalitní detekci signálu se doporučuje amplituda R-vlny zobrazená programátorem minimálně 0,3 mV a amplituda R-vlny mezi vrcholy byla nejméně dvojnásobkem vrcholu amplitudy T-vlny a P-vlny. Je však zcela nezbytné signál proměřovat na výtisku z programátoru, protože jen zde máme informace o nastavené citlivosti, jak vidíme na obr. 22. Na stínítku programátoru měřítko nastavené citlivosti není zobrazeno.



Obr. 22 Výpis naměřeného EKG signálu z programátoru

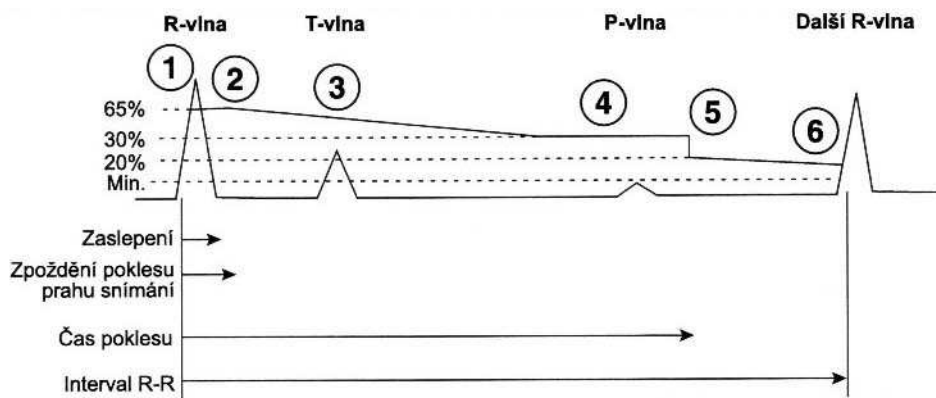
Pro lepší orientaci na výpisech detekovaných srdečních signálů, které budu uvádět ve své práci předkládám přehled užívaných značek používaných ve značkovacím kanále (tabulka č.3).

Tabulka č.3

Značka	Vysvětlení
VS	Komorové snímání
VR	Snímání refrakterní periody
AD	Délka asystolie
B	Snímání bradykardie
BD	Detekce bradykardie
TS	Snímání komorové tachyarytmie
TD	Detekce komorové tachyarytmie
FS	Snímání rychlé komorové tachyarytmie
FD	Detekce rychlé komorové tachyarytmie
TD	Detekce AT (označuje konec síňové arytmie o délce minimálně 2 min.)
FD	Detekce fibrilace síní (značuje konec síňové arytmie o délce minimálně 2 min.)
Δ	Symptom aktivovaný pacientem
VS	Ignorovaná událost

4.1.2 Nastavení citlivosti a detekce arytmií

Největší předností této generace srdečních monitorů je algoritmus detekce a nastavování citlivosti pro snímání srdečních signálů. Automatická detekce srdečních arytmií přístrojem REVEAL[®]XT je založena na senzitivě snímání R-vlny. Pro správnou funkci implantátu je důležité, aby všechny R-vlny byly správně detekovány, zatímco ostatní události nejsou označeny jako komorová událost. REVEAL[®]XT filtruje srdeční signál, čímž redukuje šum a redukuje oversensing. Filtrovaný signál je komparován s parametrem nastaveného prahu citlivosti. Práh citlivosti je definován jako minimální elektrická aktivita, která je rozpoznána jako detekovaná událost. Pouze signál, který je vyšší než nastavený práh, je označen jako R-vlna. Přístroj je nově vybaven funkcí dynamického nastavování tohoto parametru. Tato funkce automaticky reguluje práh citlivosti po detekované R-vlně a napomáhá tím k redukcí oversensingu, zatímco zajistí správný sensing následující R-vlny. Práh citlivosti však nikdy nepoklesne pod programovanou hodnotu, čímž zamezíme detekci šumu a P-vlny. Funkce automatické úpravy prahu snímání je graficky vyobrazena na obr. 23.



Obr. 23 Automatická úprava prahu snímání (280)

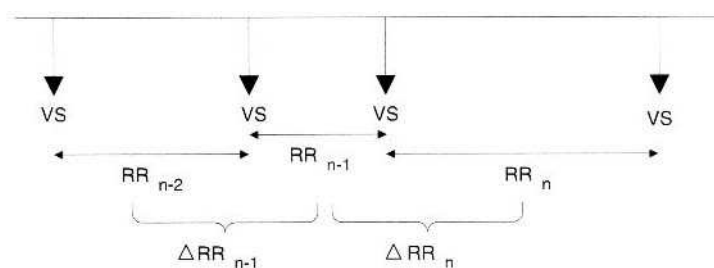
1. Po snímané R-vlně je zahájena programovatelná perioda zaslepení a práh snímání je nastaven na 65% vrcholu EKG.
2. Práh snímání zůstane na této úrovni v průběhu programovatelné periody zpoždění poklesu prahu snímání.

3. Po skončení periody zpoždění poklesu prahu snímání se práh snímání sníží na 30% vrcholu EKG v průběhu 1s.
4. Práh snímání zůstane na této úrovni do uplynutí 1,5 s od snímání R-vlny.
5. Práh snímání následně klesne na 20% vrcholu EKG.
6. Práh snímání se dále snižuje až do snímání nové R-vlny nebo do dosažení minimálního prahu. Minimální práh je naprogramované nastavení citlivosti.

4.1.3 Algoritmus identifikace epizod síňových arytmií

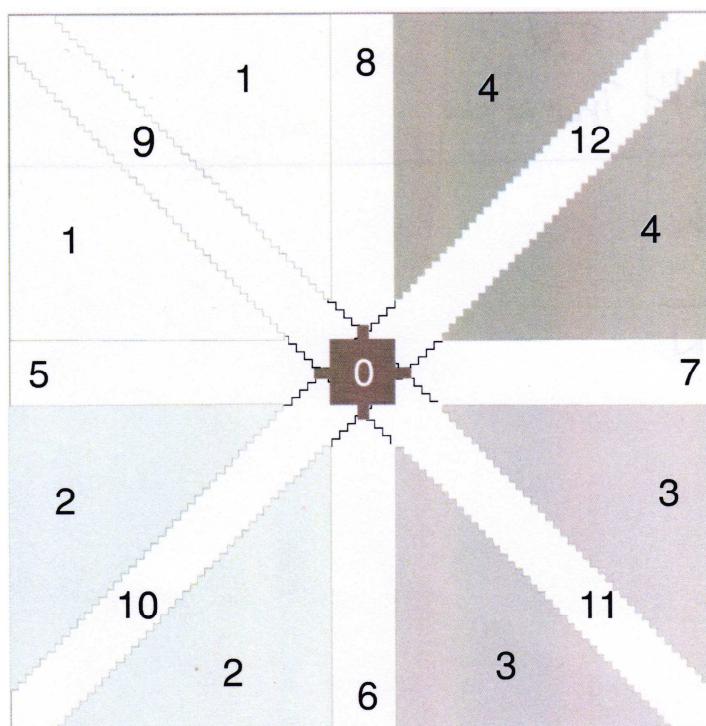
Největší předností nově inovovaného software je co nejpřesnější detekce síňových arytmií (síňová tachykardie-AT a síňová fibrilace-AF) a odlišení od atak rušení elektromagnetickou interferencí, myopotenciály a pohybem implantátu v podkožní kapse. Proto také hodnocení výkonnosti tohoto algoritmu je věnována největší pozornost studie XPECT.

Algoritmus zařazování síňových arytmií využívá principu Lorenzových map (280). Tvoření těchto map je založeno na odchylkách komorového rytmu (obr. 24).



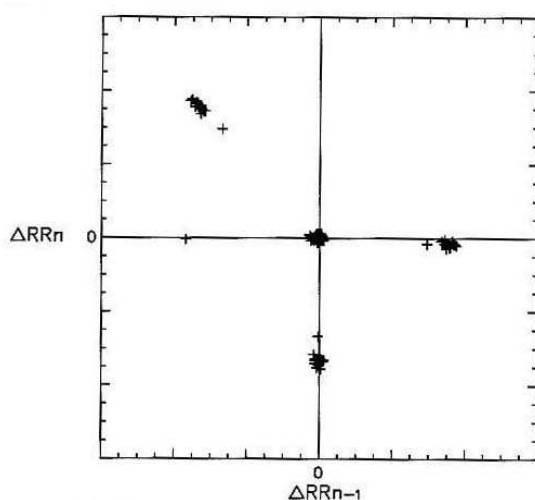
Obr. 24 R-R intervaly užívané pro Lorenzovy mapy (280)

Epizody AT/AF jsou detekovány pomocí automatického algoritmu založeného na profilu variability intervalů R-vln ve dvouminutových periodách. Rozdíly mezi po sobě následujícími intervaly R-vln jsou zaneseny do mapy Lorenzových segmentů. Tyto segmenty jsou rozděleny v rozsahu -620ms do 620ms tj. na 13 segmentů (obr. 25).

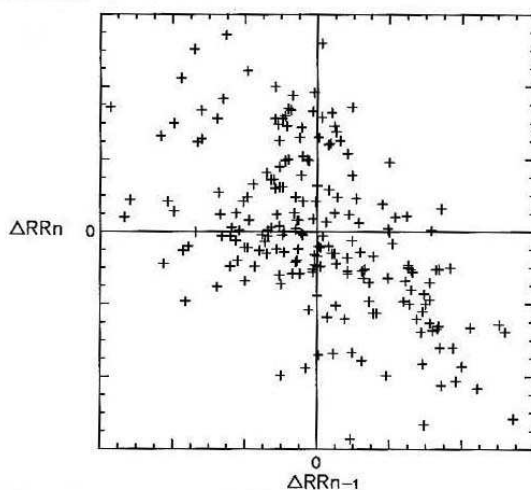


Obr. 25 Lorenzova segmentace (280)

Dle vytvořeného profilu jsou pak identifikovány epizody sínové tachykardie (AT) obr. 26 a epizody sínové fibrilace (AF) obr. 27. Pro srovnání je na obr. 28 Lorenzova mapa sinusového rytmu. Na svislé ose mapy je zakreslen rozdíl mezi dvěma po sobě následujícími intervaly R-vln (ΔRR_n). Na vodorovné ose je zakreslen rozdíl předchozích intervalů R-vln (ΔRR_{n-1}).

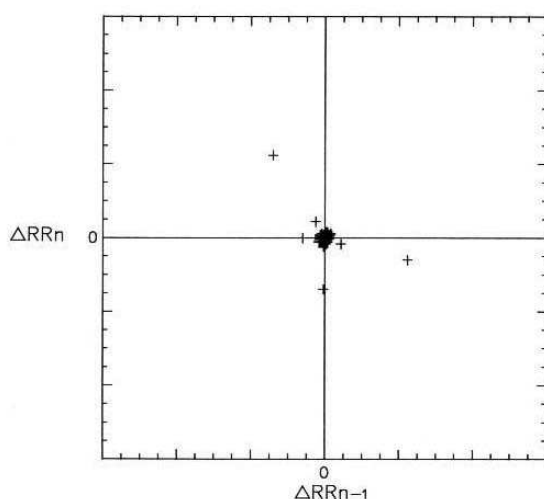


Obr. 26 Lorenzova mapa epizody AT (280)



Obr. 27 Lorenzova mapa epizody AF (280)

Intervaly R-vln jsou během epizod AF velmi nepravidelné a nekorelované na rozdíl od epizod AT, kde jsou očekávány pravidelnější profily R-vln. V zařazování těchto dvou odlišných síňových arytmií je určitá slabina tohoto software. Jde o situace, kdy přístroj REVEAL[®] XT může klinický rytmus síňové tachykardie s určitou nepravidelností klasifikovat jako fibrilaci síní. To znamená, že arytmie označená AF může zobrazovat výskyt události AT.

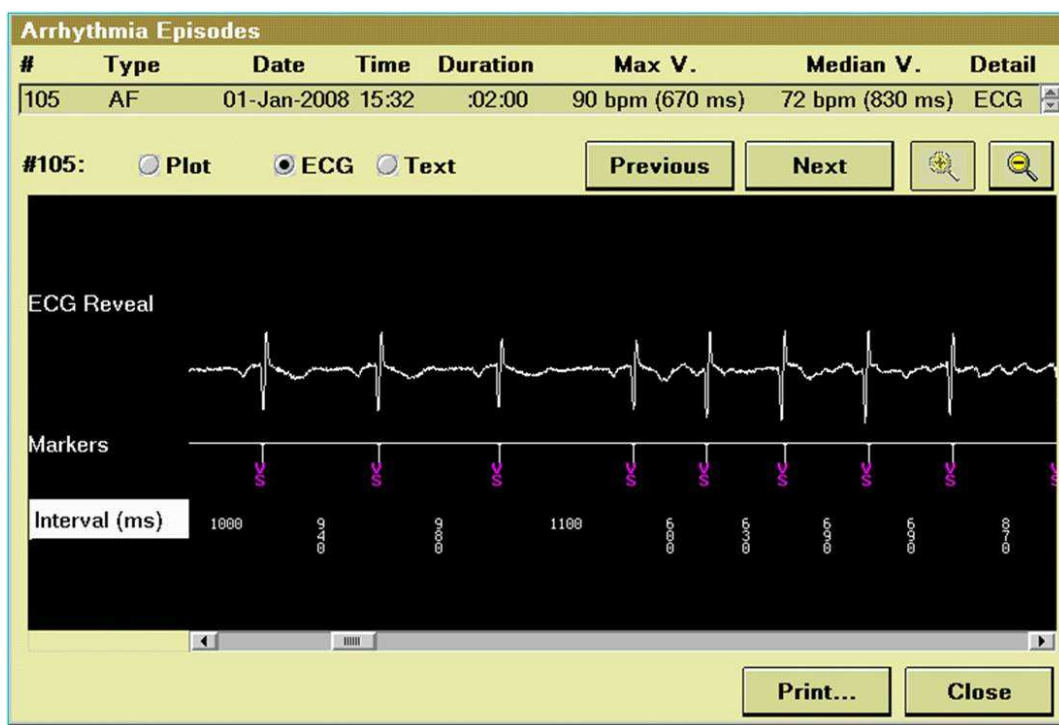


Obr. 28 Lorenzova mapa sinusového rytmu (280)

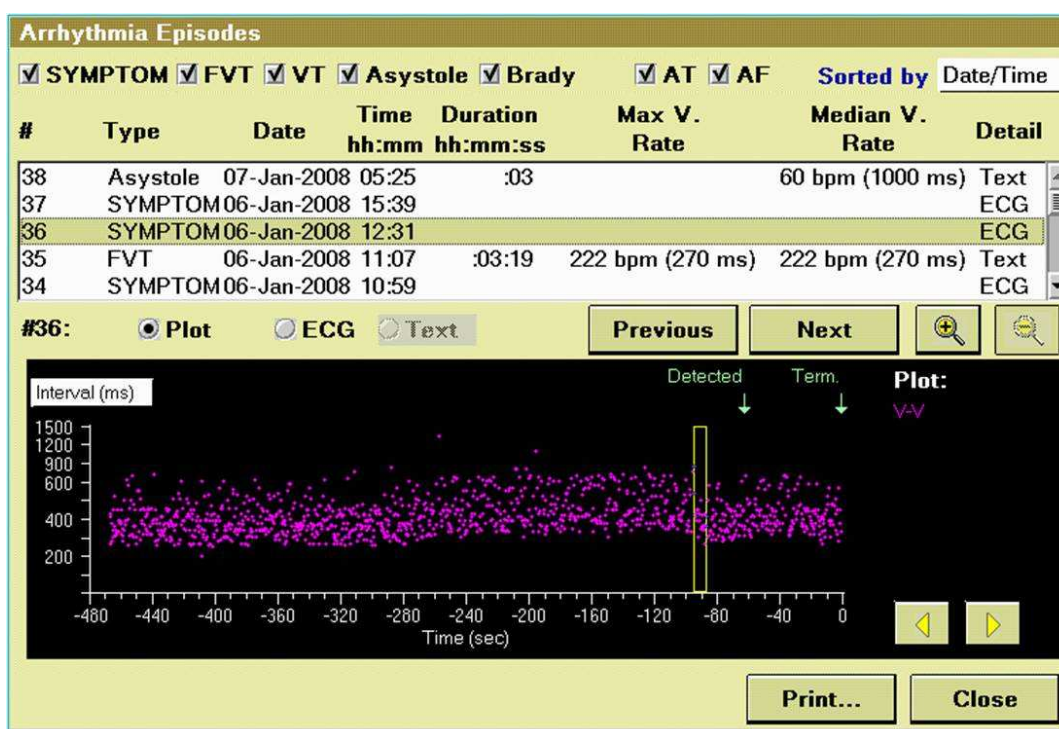
Dejekované a pojmenované epizody jsou zobrazeny ve třech formátech:

- Záznam EKG epizody (obr. 29)

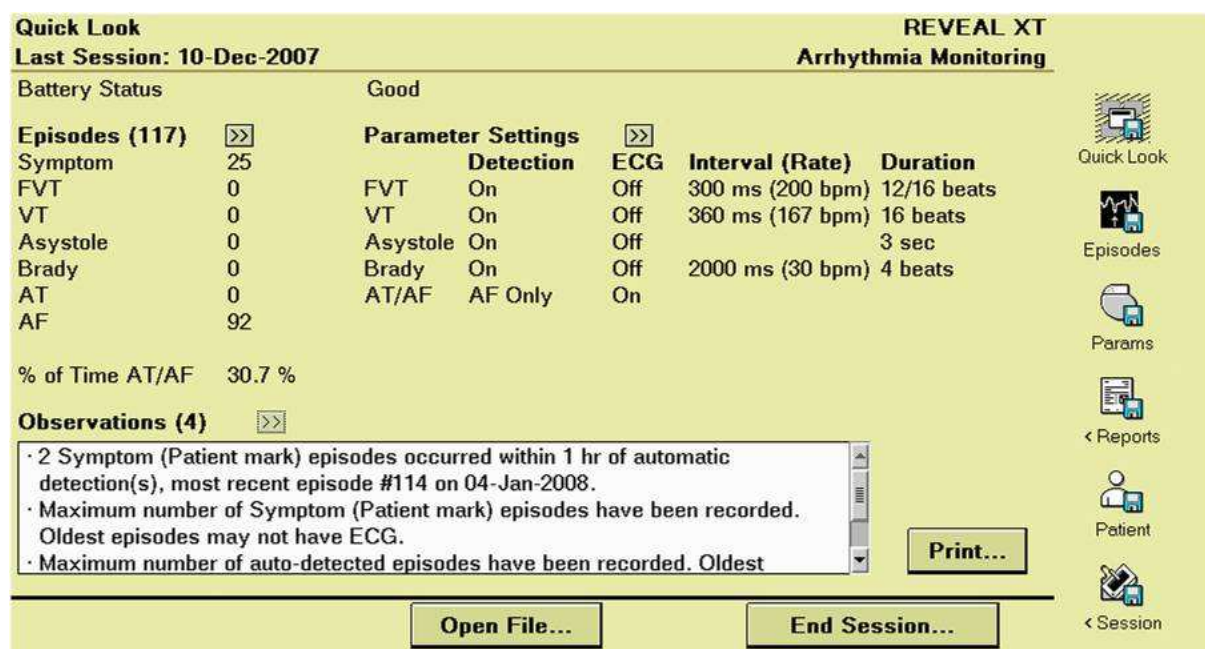
- Mapa intervalů epizody (obr. 30)
- Textová forma epizody (obr. 31)



Obr. 29 Záznam EKG epizody



Obr. 30 Mapa intervalů epizody



Obr. 31 Textová forma zachycené epizody

Záznam EKG epizody nám umožňuje analyzovat reálný srdeční signál, jak byl uložen do paměti monitoru. Správnost zařazení epizody ověřujeme na mapě intervalů epizody. Pro každou zachycenou arytmiu je znám typický intervalový obraz, podle kterého se při ověřování orientujeme. Na obr. 30 vidíme takový typický obraz pro síňovou fibrilaci. Textový popis arytmiie nám dává informaci o délce trvání, přesného začátku a konci epizody, frekvenci arytmiie, nastavených detekčních kritérií a nastavené citlivosti. Současně dává informaci o procentu záchytu AT/AF.

4.2 Studie XPECT

Jde o prospektivní, nerandomizovanou, multicentrickou mezinárodní post-market studii.

Cílem studie XPECT (Reveal[®] XT Performance Trial) je stanovit správnost několika parametrů přístroje REVEAL[®] XT, a to na základě shromažďování informací od pacientů v zúčastněných kardiologických centrech, kteří si nechají zavést tento přístroj. Porovnávaly se

údaje o srdečním rytmu, které byly zaznamenány přístrojem REVEAL® XT, s údaji, které byly získány pomocí monitorovacího zařízení Holterova typu (Digitální Holter model DR 220). Tyto poznatky budou využity pro další optimalizaci přístroje REVEAL® XT a pro vědecký a technický vývoj nejen u tohoto výrobku, ale také u dalších nových výrobků s algoritmem klasifikace arytmií. Účast pacientů bude trvat 10 týdnů a celá studie bude trvat 10 měsíců. Do studie je zařazeno na našem pracovišti 25 pacientů.

4.2.1 Kritéria pro zařazení do studie

Předpokladem pro zařazení pacientů do studie je splnění následujících kritérií:

- Pacient musí být ochoten a schopen poskytnout informovaný souhlas
- Pacient má implantovaný monitor REVEAL® XT
- Pacient splní alespoň jeden z následujících tří dalších předpokladů
 1. Plánuje se u něj ablace plicních žil nebo chirurgická ablace a tyto výkony lze odložit do ukončení studie
 2. Je u něj doložen častý výskyt AF nebo časté příznaky podmíněné AF nebo
 3. Podstoupil ablaci plicních žil v posledních 6 měsících a má stále příznaky, které jsou podmíněné AF.

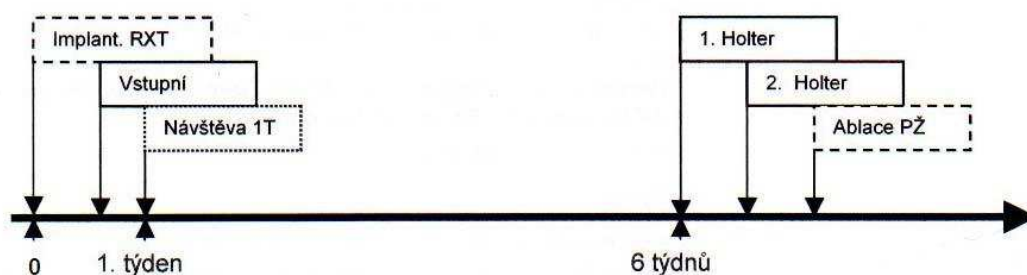
4.2.2 Vylučující kritéria ze studie

Do studie nemohou být zařazeni pacienti, kteří budou mít kterékoliv z následujících vylučovacích kritérií:

- Pacient má implantovaný kardiostimulátor nebo ICD (kardioverter-defibrilátor)
- Pacient má perzistující nebo permanentní AF
- Pacient je alergický na adhezivní EKG elektrody
- Studie by narušila léčebný nebo diagnostický postup, který se v období studie plánuje nebo jehož provedení se v tomto období očekává
- Pacient se účastní jiné zkoušky, která může narušit výsledky této zkoušky

- Pacient je nezletilý nebo právně nezpůsobilý
- Pacientka je těhotná

4.2.3 Schéma studie



Klinické postupy

	Vstupní návštěva	Návštěva v 1. týdnu	1. Holter	Opakovaný 1. Holter	2. Holter	Opakovaný 2. Holter
Informovaný souhlas	X					
Informace o implantaci Reveal, demografické údaje, lékařská anamnéza	X					
Užívané léky			X		X	
Dotazník Vector Check	X					
Průzkum Patient Assistant		X	X			
Počáteční „Save to Disk“		X	X			
Optimalizace snímání			X			
Přiložení Holteru			X		X	
Závěrečná „Save To Disk“ + vrácení Holteru				X		X

4.2.4 Protokol studie



Study Outline

REVEAL XT PERFORMANCE TRIAL "XPECT" - POSTUP

1. IMPLANTACE Reveal XT

NENÍ SOUČÁSTÍ PROTOKOLU studie xPECT.

Činnost:

- měření R-wave amplitudy Pre- a post-implant (pro pacientovu dokumentaci).
- Optimální Vector Check = Pre-implant amplituda alespoň 0,3mV.

JE NUTNÁ k poučení pacienta a k získání jeho informovaného souhlasu.

Po získání pacientova souhlasu JE FAKTICKÝM ZAHÁJENÍM STUDIE podle protokolu.

Činnost:

- nejprve pouč pacienta a získej jeho souhlas
- vyplň příslušné CRF vč. demo dat, medikace a Vector Check Questionnaire

JE POUZE DOPORUČENÁ v případě uskutečnění implantace v posledních max.14 dnech (3-14 dní po implantaci).

Činnost:

- "Save to Disk" na začátku
- vyplň příslušné CRF vč. dotazu na užitečnost "Patient Assistanta"
- mohou optimalizovat snímání

nejdříve 6 týdnů po implantaci (viz 1.) a nejméně 4 dny před PVA nebo chirurgickou procedurou (jsou-li plánovány)

Činnost:

- "Save to Disk" na začátku
- dotaz na užitečnost "Patient Assistanta"
- optimalizovat snímání podle klinického manuálu R.XT
- **Programace:**
 - <Detection Enhancements>/<AT/AF Detection Type>: „AF Only“, <AF Detection>: „Balanced Sensitivity“
 - Vytiskni „Changes this Session“.
 - Vymaž paměti
 - Kontinuální snímání EKG a markerového kanálu
- Připoj externího Holtera na min.46 hodin a pozvi pacienta na dokončení snímání Holtera za 2-3 dny
- Odeber pacientovi "Patient Assistanta" nebo instruuj, aby ho nepoužíval
- vyplň příslušné CRF (Investigator Site File)

1a. BASELINE VISIT

Je možno spolu s 1., nebo 1b nebo 2.

1b. 1 WEEK VISIT

Max.do 2 týdnů

Min. 6 týdnů

2. 1st HOLTER – zahájení

2-3 dny

1st HOLTER – dokončení

Činnost:

- "Save to Disk" na začátku
- Odpoj externího Holtera
- **Kontrola AF burden pomocí funkce "Quick Look Report":**
 - JESTLIŽE je AF burden $\geq 2\%$, ukončení studie, vrať pacientovi "Patient Assistanta"**
 - **Programace: Podle rozhodnutí lékaře nebo „default settings“**
 - JESTLIŽE je AF burden $\leq 2\%$, plánuj 2.Holtera do max. 4týdnů**
 - **Programace: Podle rozhodnutí lékaře nebo „default settings“**
- Vynulování paměti

Max.do 4 týdnů

3. 2nd HOLTER

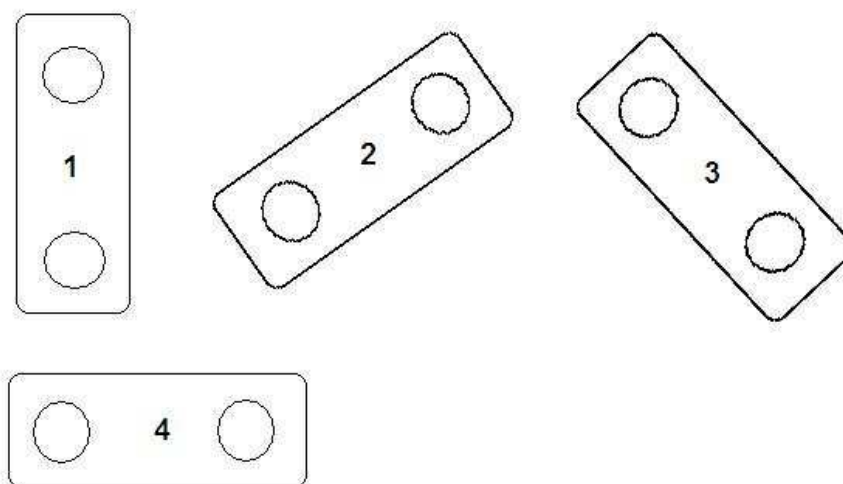
vše jako v případě kroku 2. 1st HOLTER. **Pak UKONČENÍ STUDIE.**

4.2.4.1 Činnost v jednotlivých fázích protokolu.

Fáze implantace srdečního monitoru

V této fázi projektu bylo mým úkolem ověřit přesnost nově zavedeného nástroje VECTOR CHECK. Dle protokolu studie jsem srdeční signály měřil v přesně definovaných pozicích, jak je schematicky znázorněno na obr. 31. Tyto pozice jsou definovány takto:

1. Vertikální pozice
2. Šikmá pozice směrem ke sternu
3. Šikmá pozice směrem od sternu
4. Horizontální pozice



Obr. 31 Testované pozice před implantací

Techniku snímání srdečních signálů pomocí systému VECTOR CHECK jsem aplikoval, jak je uvedeno v kapitole 4.1.1. Po změření amplitudy P- a R-vlny v jednotlivých pozicích jsem vyhodnotil detekované signály a pro implantaci použil tu pozici, která vykazovala nejvyšší amplitudy a současně nejlepší poměr P/R a R/T vln. V této pozici jsme provedli implantaci srdečního monitoru do podkožní kapsy, která z důvodu omezení atak artefaktů má být co nejtěsnější. Nicméně je vždy po implantaci nutno počítat s určitou volností implantátu a tím i se zvýšeným počtem artefaktů. Ověření vlivu této okolnosti bylo i jedním z cílů studie VISIT. Protokol této studie je popsán v kapitole 4.3. Po uzavření operační

rány jsem prováděl proměřování detekovaného signálu srdečním monitorem a po té jsem provedl finální programaci platnou do první kontroly pacienta.

Kontrola v souvislosti s Holterovou monitorací

Přibližně 6 týdnů po implantaci přístroje REVEAL®XT bude provedeno Holterovo vyšetření. Jde o běžný postup u pacientů s nepravidelným srdečním rytmem. Díky speciálnímu Holterovu zařízení DR 220 se získají současné a nepřetržité záznamy srdečního signálu povrchového EKG. Vyšetření trvalo 48 hodin a po této době se načítají data ze srdečního monitoru a vyhodnotí se procento zachycené síňové arytmie. Pokud bude méně než 29 minut (2%), pacient se podrobí druhému 48 hodinovému Holterovu hodnocení. Po vyhodnocení tohoto druhého vyšetření je účast pacienta na studii XPECT ukončena. Pokud trvá arytmie déle jak 29 min., pacient se již druhému Holterovu vyšetření napodrobuje a studie pro něj končí.

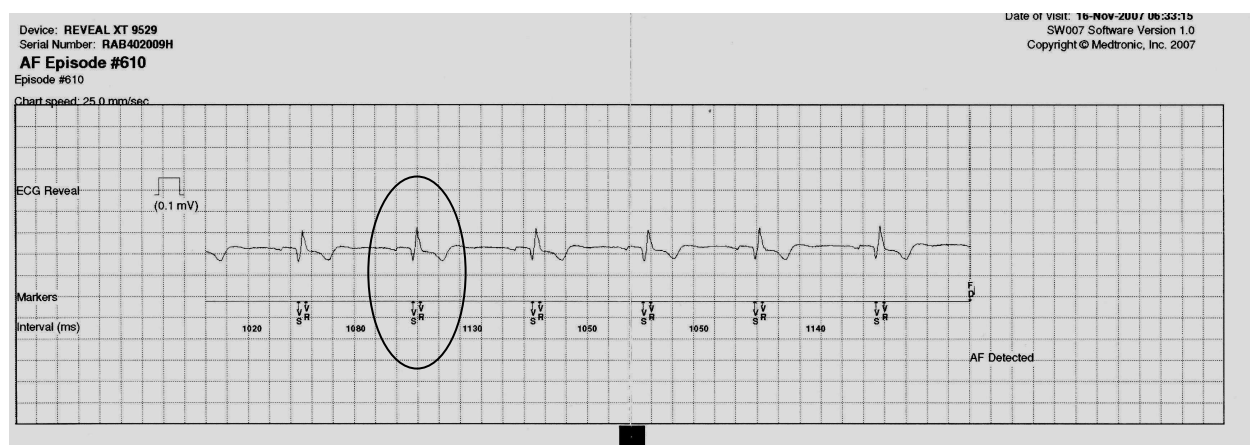
Optimalizace parametrů citlivosti

Před aplikací prvního Holterova vyšetření provedeme optimalizaci nastavení citlivosti detekce R-vlny. Prvním krokem je načtení dat ze srdečního monitoru a vyhodnocení označených arytmií pro další zpracování dle protokolu studie. Z tištěné formy zaznamenaných arytmií odečítáme amplitudy signálů, jak síňových, tak i komorových. Dle výsledků měření provedeme optimalizaci parametrů citlivosti detekce. Jedná se o parametry:

- a. citlivost
 - b. „zaslepení po snímání“ zaznamenané události
 - c. zpoždění poklesu prahu citlivosti
- ad a) V tomto kroku programujeme minimální hodnotu prahu citlivosti dle naměřené R-vlny. Je vždy potřeba tuto hodnotu programovat s jistou opatrností. Příliš vysoko nastavená citlivost způsobí pokles zaznamenaných událostí s nižší amplitudou R-vlny a naopak příliš vysoká citlivost způsobí zvýšení počtu detekovaných arytmií, ale je zde riziko oversensingu způsobené elektromagnetickou interferencí, myopotenciály a P- a T-vlnou.
- ad b) Nyní programujeme čas „zaslepení po snímání“, který má začátek po zaznamenané R-vlně. Během tohoto intervalu jsou inhibovány jakékoliv signály přicházející do srdečního monitoru. Tento parametr slouží k prevenci vícenásobné detekci signálů následovaných bezprostředně po R-vlně nebo vícenásobné snímání v důsledku

širokého komplexu. Tato situace je patrna na obr. 32, kde sekvence VS-VR je charakteristická pro tento jev.

ad c) Posledním krokem je nastavení zpoždění poklesu prahu citlivosti, který je jedním z parametrů ovlivňující funkci automatické detekce arytmií. Nastavujeme délku periody, během které práh citlivosti zůstává na počáteční hodnotě po detekované R-vlně. K zajištění správného snímání komorového signálu je potřeba programovat tuto hodnotu delší než je nastaveno „zaslepení po snímání“.



Obr. 32 Detekce širokého QRS komplexu

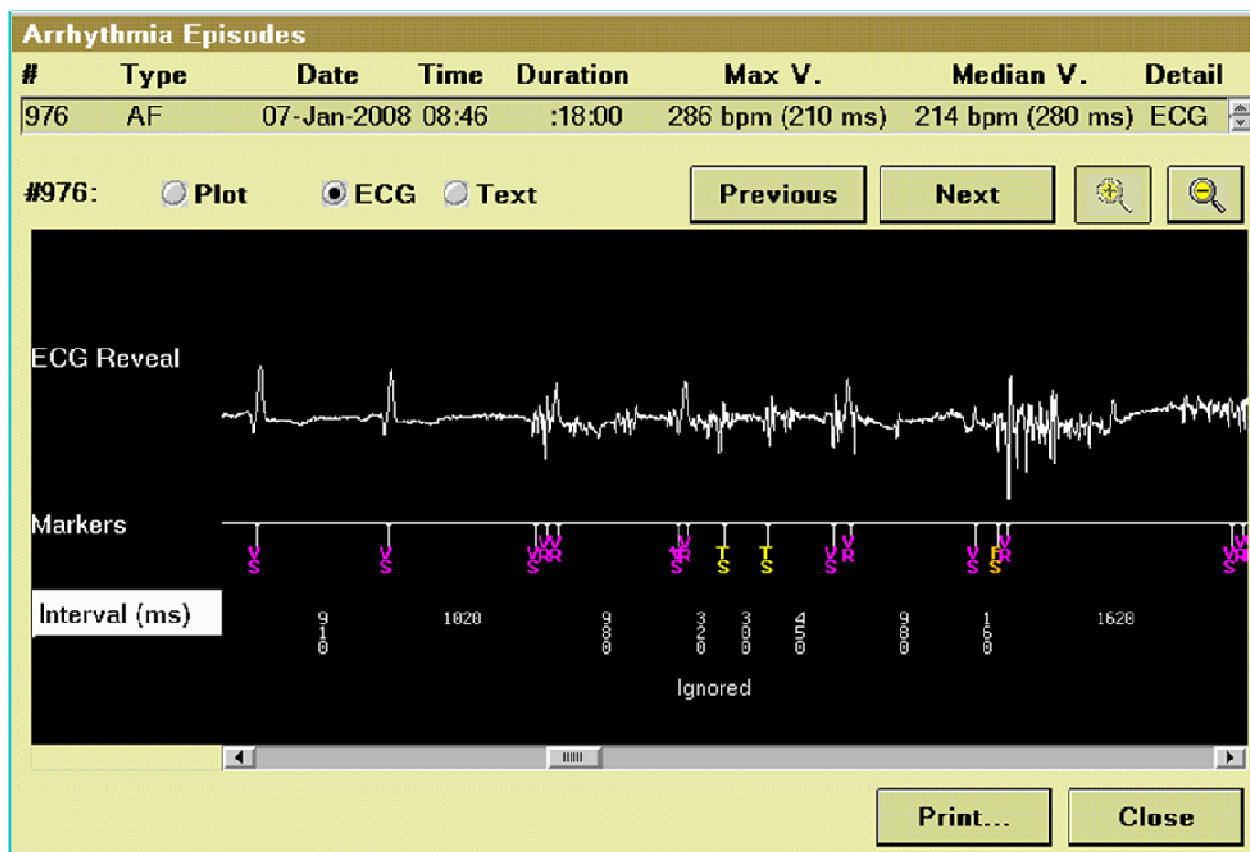
4.3 Studie VISIT

Hlavním cílem studie VISIT (Variables Influencing Sensing after Reveal[®] XT Implantation) je systematické sledování vývoje R-vlny po dobu jednoho roku. Specificky se sleduje vliv změny amplitudy na přesnost detekce arytmií srdečním monitorem REVEAL[®] XT a dále interpretovatelnost srdečního signálu vzhledem k šumu. Studie je navržena pro skupinu 40 – 50 pacientů.

Základním problémem při detekci a analýze srdečního signálu implantabilním monitorem jsou:

1. Příležitostná variabilita R-vlny nebo její nízká amplituda
2. Příležitostný šum v signálu zapříčiněn pohybem implantátu v podkožní kapse, myopotenciály, elektromagnetickou interferencí případně špatným poměrem P/R nebo R/T vlny. Příklad neadekvátní detekce je na obr. 33.

První uvedený jev vede k případu undersensingu, který se projevuje tím, že algoritmus srdečního monitoru nedetekuje R-vlnu. To vede k falešně negativnímu snímání R-vlny. Druhý jev vede k případu oversensingu, což se projevuje tím, že detekční algoritmus REVEALu® XT detekuje R-vlnu ačkoliv žádnou signál neobsahuje. Toto pak vede k falešně pozitivnímu snímání R-vlny.



Obr. 33 Příklad neadekvátní detekce

4.3.1 Kritéria pro zařazení do studie

Předpokladem pro zařazení pacientů do studie je splnění následujících kritérií:

- Pacient musí být ochoten a schopen poskytnout informovaný souhlas
- Pacient má implantovaný monitor REVEAL® XT
- Pacient je ve věku zletilosti

4.3.2 Vylučující kritéria ze studie

Do studie nemohou být zařazeny pacienti, kteří budou mít kterékoliv z následujících vylučovacích kritérií.

- Pacient má implantovaný kardiostimulátor
- Pacient má implantovaný kardioverter-defibrilátor

4.3.3 Protokol studie VISIT

Jednotlivé klinické postupy studie jsou obsaženy v tabulce č.4.

Tabulka č.4

	Implantace	Kontrola 3měs.	Kontrola 6měs.	Kontrola 9měs.	Kontrola 12měs.
Pacientská data	x	(x)	(x)	(x)	(x)
Mapování signálu a nalezení optimálního místa implantátu	x				
Implantace a záznam detekovaného signálu monitorem	x				
Programace srdečního monitoru	x	x	X	x	x
Sběr uložených dat z REVEAL[®] XT a jejich analýza	x	x	X	x	x

(x) alternativní možnost nejsou-li data získána dříve

4.3.3.1 Činnost v jednotlivých fázích protokolu.

Pacientská data

V této fázi protokolu získáváme informace, které mohou ovlivňovat kvalitu detekovaného signálu eventuálně o dalších činnostech ovlivňující analýzu typu arytmií. Jsou to především:

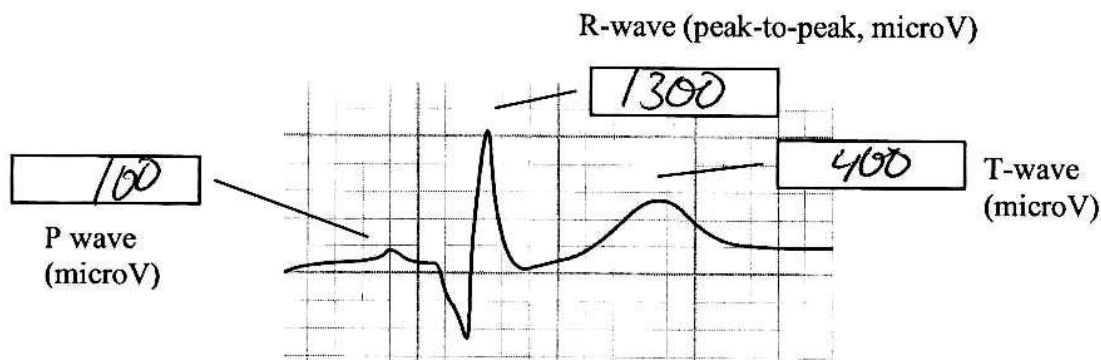
- BMI
- Dominantní pravorukost či levorukost
- Aktivita v zaměstnání či volném čase
- Pohlaví a věk pacienta
- Typ pokožky

Mapování signálu a nalezení optimálního místa implantátu

Nalezení nejvhodnější pozice pro implantaci srdečního monitoru jsem prováděl stejným postupem, jak je popsáno v kapitole 4.1.1. Hodnoty P-, R- a T-vlny ve finální pozici jsem podrobně zaznamenával do protokolu. Příklad vidíme na obr. 34.

Implantace a záznam detekovaného signálu monitorem

Během implantační procedury do zvoleného místa zaznamenáváme do protokolu velikost podkožní kapsy, hloubku uložení implantátu, délku procedury, přesnost umístění implantátu vzhledem k vyznačené pozici před implantací a typ sutury. Po implantaci srdečního monitoru provádím měření detekovaného signálu P- a R-vlny a tyto zaznamenávám do tabulky.



Obr. 34 Záznam naměřených hodnot ve finální poloze

Programace srdečního monitoru







V této fázi provádím závěrečnou programaci implantabilního srdečního monitoru. Ta se řídí základní diagnózou a charakterem obtíží pacienta a nastavené parametry detekce monitorem se řídí naměřenými hodnotami srdečního signálu po implantaci. Typická programace pro síňové arytmie je na obr. 35.

Parameters				
	Detection	ECG Recording	Interval (Rate)	Duration
FVT	On	On	300 ms (200 bpm)	12/16 beats
VT	On	On	360 ms (167 bpm)	16 beats
Brady	On	On	2000 ms (30 bpm)	4 beats
Asystole	On	On		3 sec
AT/AF	AF Only	On		

Additional Settings	Status Notifications	Device Data Collection...
Sensing...	Patient Assistant Setup...	On
Detection Enhancements...		

Save...
Get...
Undo Pending
Print...
PROGRAM

Interrogate...
End Session...


Quick Look

Episodes

Params

< Reports

Patient

< Session

Obr. 35 Finální programace srdečního monitoru

Sběr uložených dat z monitoru REVEAL[®] XT a jejich analýza

Posledním bodem protokolu je sběr dat uložených v paměti srdečního monitoru a celkové zhodnocení zaznamenaných epizod, jak bude uvedeno v kapitole 5 a 6. V případě potřeby provádím úpravu citlivosti pro detekci arytmií platnou pro následující období. Sběr a vyhodnocení zaznamenaných dat uskutečňuji vždy po 3, 6, 9 a 12 měsíci od implantace.

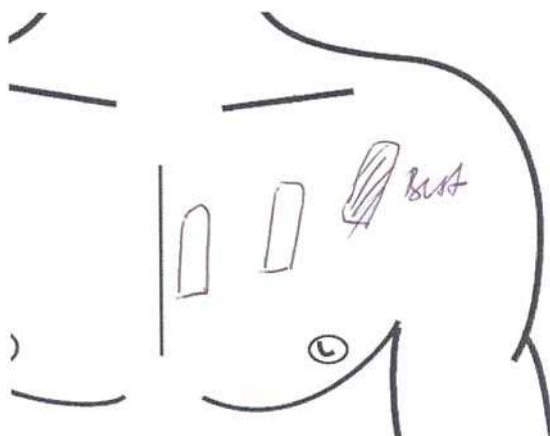
5 NAMĚŘENÉ HODNOTY

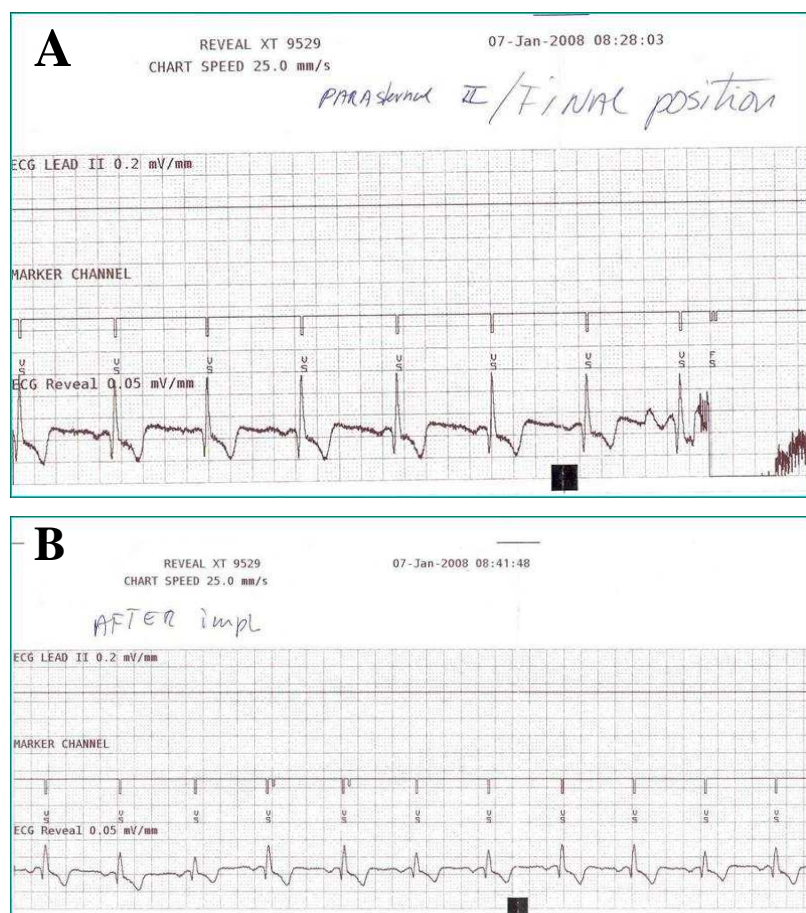
5.1 Naměřené hodnoty studie XPECT

5.1.1 Kvantifikace P- a R- vlny před a po implantaci srdečního monitoru

Protokol této fáze studie je uveden v kapitole 4.2.4.1. Měření jsem prováděl standardizovaným postupem od pozice 1 postupně do pozice 4 a to vždy ve stejném pořadí. V každé této pozici jsem dokumentoval detekovaný srdeční signál na výpis z programátoru a na ten jsem označil příslušnou pozicí, jak lze vidět na obr. 36A. Po nalezení a označení nejlepší pozice jsem se na závěr vrátil k této pozici a ověřil, zda je pozice skutečně nejlepší. Do označené pozice jsme pak srdeční monitor implantovali.

A





Obr. 36 Výpis signálu před implantací (A) a po implantaci (B)

Po implantaci jsem zaznamenal detekovaný signál implantátem (obr. 36B) a porovnal ho se signálem naměřeným systémem VECTOR CHECK. Změřené hodnoty jsou zaznamenány do tabulky včetně čísla nejlepší pozice a dále statisticky zpracovávány. Naměřené hodnoty P- a R-vlny jsou tabelárně zpracovány v tabulce č.6 a graficky v grafu č.1 a č.2 a to nejprve systémem VECTOR CHECK a následně po implantaci srdečním monitorem.

Tabulka č.6 Naměřené hodnoty P- a R-vlny před a po implantaci

PACIENT	VECTOR CHECK		SRDEČNÍ MONITOR		POZICE MONITORU
	P-vlna	R-vlna	P-vlna	R-vlna	
	(mV)	(mV)	(mV)	(mV)	
CZ 001-001	0,05	0,40	0,08	0,70	2
CZ 001-002	0,08	0,30	0,07	1,20	1
CZ 001-003	0,04	0,80	0,10	0,50	1

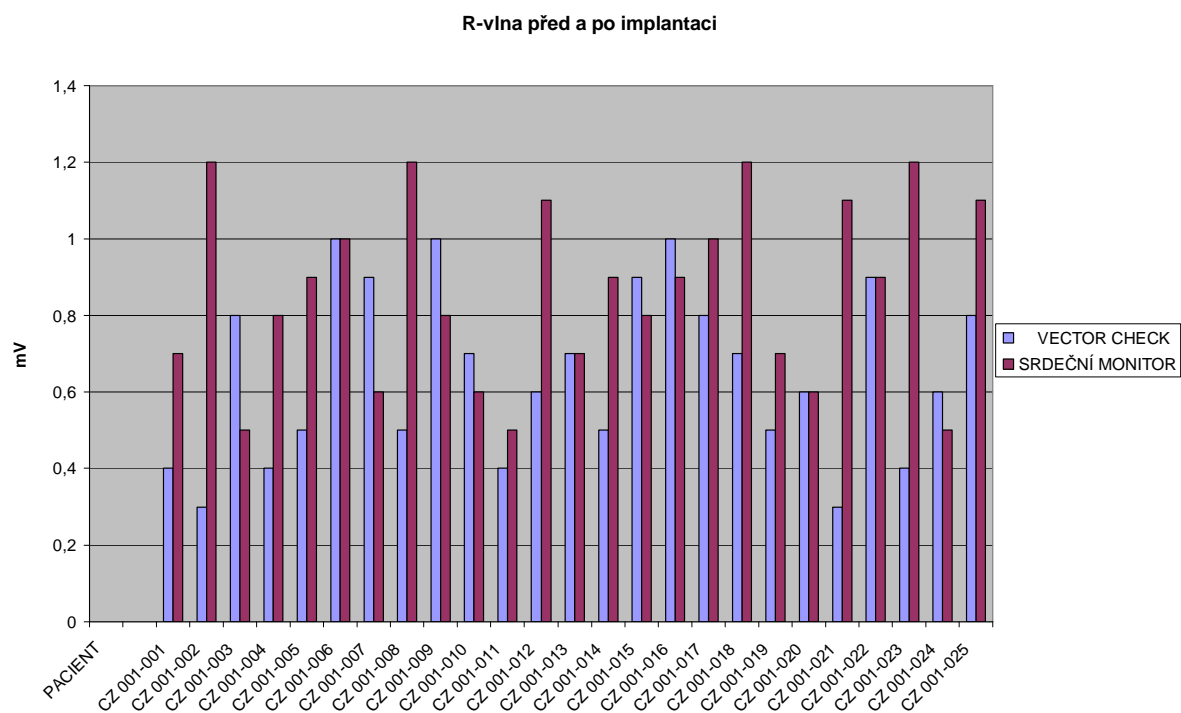
CZ 001-004	0,06	0,40	0,07	0,80	1
CZ 001-005	0,07	0,50	0,09	0,90	3
CZ 001-006	0,05	1,00	0,08	1,00	1
CZ 001-007	0,04	0,90	0,08	0,60	4
CZ 001-008	0,06	0,50	0,10	1,20	2
CZ 001-009	0,09	1,00	0,07	0,80	2
CZ 001-010	0,08	0,70	0,07	0,60	1
CZ 001-011	0,05	0,40	0,09	0,50	3
CZ 001-012	0,07	0,60	0,10	1,10	4
CZ 001-013	0,08	0,70	0,08	0,70	1
CZ 001-014	0,04	0,50	0,07	0,90	1
CZ 001-015	0,07	0,90	0,08	0,80	2
CZ 001-016	0,09	1,00	0,09	0,90	1
CZ 001-017	0,05	0,80	0,10	1,00	4
CZ 001-018	0,04	0,70	0,08	1,20	3
CZ 001-019	0,07	0,50	0,09	0,70	1
CZ 001-020	0,09	0,60	0,10	0,60	2
CZ 001-021	0,06	0,30	0,08	1,10	1
CZ 001-022	0,08	0,90	0,09	0,90	3
CZ 001-023	0,06	0,40	0,08	1,20	1
CZ 001-024	0,04	0,60	0,07	0,50	3
CZ 001-025	0,05	0,80	0,09	1,10	1

Z tabulky jsem data dále analyzoval a výsledky budou uvedeny v kapitole 6, ale již nyní je možno říci, že jako nejvhodnější pozice pro implantaci se jeví pozice 1, která byla vyhodnocena v celkovém počtu 48%. Druhá nejčtenější pozice je pod číslem 2 a 3 s 20% zastoupením.

Graf č.1



Graf č.2



5.1.2 Zhodnocení algoritmu detekce síňových arytmií

5.1.2.1 Vyhodnocení výkonnosti funkce denního zatížení algoritmu

Kriteria hodnocení výkonnosti algoritmu pro diagnostiku AF

Pro účely vyhodnocení tohoto parametru jsem pacienty rozdělil do dvou skupin. Kvantifikoval jsem všechny zachycené epizody síňové fibrilace za období 24 hodin. První skupina (tabulka č.7) je tvořena pacienty se součtem časů denního zatížení $> 1\%$ AF tj. více jak 14,5 min. V této skupině je zatížení detekované algoritmem považováno za přesné, pokud bylo $\pm 25\%$ ve srovnání s Holterovým vyšetřením. U pacientů s denním zatížením $\leq 1\%$ AF tj. méně jak 14,5 min (tabulka č.8) bylo zatížení detekované algoritmem považováno za přesné, pokud bylo také $\leq 1\%$ ve srovnání s Holterovským vyšetřením.

Tabulka č.7

	HOLTER	SRDEČNÍ MONITOR $> 1\%$		
PACIENT	SOUČET ČASŮ EPIZOD AF (min)	SOUČET ČASŮ EPIZOD AF (min)	VYJÁDŘENÍ DETEKOVANÝCH EPIZOD AF (%)	SPLNĚNÍ PODMÍNKY PŘESNOSTI DETEKCE
AFB 001-001	190	229	120,5	A
AFB 001-002	76	66	86,8	A
AFB 001-003	650	710	109,2	A
AFB 001-004	590	615	104,3	A
AFB 001-005	349	405	116,0	A
AFB 001-006	902	1029	114,1	A
AFB 001-007	77	96	124,6	A
AFB 001-008	316	281	89,0	A
AFB 001-009	289	358	123,8	A
AFB 001-010	201	250	124,3	A
AFB 001-011	513	500	97,4	A
AFB 001-012	101	174	172,2	N
AFB 001-013	31	38	122,5	A
AFB 001-014	55	68	123,6	A
AFB 001-015	471	515	109,3	A
AFB 001-016	115	120	104,3	A
AFB 001-017	249	230	92,3	A
AFB 001-018	310	381	122,9	A

AFB 001-019	532	662	124,4	A
AFB 001-020	90	79	87,7	A
AFB 001-021	35	59	168,5	N
AFB 001-022	185	217	117,2	A
AFB 001-023	264	301	114,1	A
AFB 001-024	67	59	88,0	A
AFB 001-025	639	685	107,2	A

Tabulka č.8

	HOLTER	SRDEČNÍ MONITOR ≤ 1%	
PACIENT	SOUČET ČASŮ EPIZOD AF (min)	SOUČET ČASŮ EPIZOD AF (min)	SPLNĚNÍ PODMÍNKY PŘESNOSTI DETEKCE
AFB 001-026	11,5	13,0	A
AFB 001-027	9,0	14,0	A
AFB 001-028	10,0	11,0	A
AFB 001-029	6,5	9,0	A
AFB 001-030	14,0	14,5	A
AFB 001-031	3,5	4,5	A
AFB 001-032	8,5	12,0	A
AFB 001-033	13,5	13,0	A
AFB 001-034	10,5	14,0	A
AFB 001-035	11,0	14,0	A
AFB 001-036	9,0	10,0	A
AFB 001-037	13,5	16,0	N
AFB 001-038	12,0	14,0	A
AFB 001-039	9,0	9,0	A
AFB 001-040	11,0	13,0	A
AFB 001-041	8,5	12,5	A
AFB 001-042	14,0	13,5	A
AFB 001-043	13,0	14,5	A
AFB 001-044	7,0	10,0	A
AFB 001-045	10,5	12,0	A
AFB 001-046	11,0	14,0	A
AFB 001-047	5,5	8,0	A
AFB 001-048	8,0	11,0	A
AFB 001-049	12,0	14,0	A
AFB 001-050	13,0	14,0	A

5.1.2.2 Výkonnost funkce detekce epizod síňové fibrilace

Dle protokolu studie se pro účely analýzy detekovaných epizod a jejich správnou klasifikaci využívalo Holterovo vyšetření s použitím algoritmu, jak je uvedeno v kapitole 3.1. Jak je patrné z uvedené tabulky č.9 všichni pacienti zařazení do studie XPECT splnili kritéria pro absolvování prvního Holterova vyšetření. Stejný počet pacientů absolvoval toto vyšetření v plném rozsahu a v případě splnění kritérií skupina pacientů mohla podstoupit druhé Holterovo vyšetření. Počty pacientů a vyjádření v procentech jednotlivých fází protokolu jsou patrné z tabulky č.9.

Tabulka č.9

PACIENT	BASELINE	1.HOLTER	1.HOLTER VYHODNOCENÍ	2.HOLTER	2.HOLTER VYHODNOCENÍ
CZ 001-001	√	√	√	√	√
CZ 001-002	√	√	√	√	√
CZ 001-003	√	√	√		
CZ 001-004	√	√	√	√	√
CZ 001-005	√	√	√	√	√
CZ 001-006	√	√	√	√	√
CZ 001-007	√	√	√	√	√
CZ 001-008	√	√	√		
CZ 001-009	√	√	√		
CZ 001-010	√	√	√	√	√
CZ 001-011	√	√	√	√	√
CZ 001-012	√	√	√		
CZ 001-013	√	√	√		
CZ 001-014	√	√	√	√	√
CZ 001-015	√	√	√	√	√
CZ 001-016	√	√	√	√	√
CZ 001-017	√	√	√		
CZ 001-018	√	√	√		
CZ 001-019	√	√	√		
CZ 001-020	√	√	√	√	√

CZ 001-021	√	√	√		
CZ 001-022	√	√	√		
CZ 001-023	√	√	√	√	√
CZ 001-024	√	√	√	√	√
CZ 001-025	√	√	√	√	√
% zúčastněných pacientů	100	100	100	60	60

Následující tabulky č.10 a č.11 shromažďují data o detekčních schopnostech rozpoznávacího algoritmu. V tabulkách jsou data o správně rozpoznaných epizodách arytmií, ale i o falešně pozitivním záchytu převážně síňových fibrilací, které srdeční monitor diagnostikoval jako skutečnou arytmií. Tabulka č.10 obsahuje informace o epizodách s délkou trvání delší než 2 minuty a tabulka č.11 obsahuje data o všech arytmiických epizodách.

Tabulka č.10
Epizody síňové
fibrilace > 2 min

PACIENT	SRDEČNÍ MONITOR					HOLTER 1		HOLTER 2	
	No.EPIZOD	No.EPIZOD AF	No.EPIZOD FALEŠNÉ AF	No.EPIZOD JINÝCH TYPŮ ARR	No.EPIZOD JINÝCH TYPŮ ARR	No.EPIZOD AF	No.EPIZOD JINÝCH TYPŮ ARR	No.EPIZOD AF	No.EPIZOD JINÝCH TYPŮ ARR
		TP	FP	FN	TN				
CZ 001-001	17	11	2	0	4			11	4
CZ 001-002	22	17	3	0	2			17	2
CZ 001-003	76	50	5	1	20	50	21		
CZ 001-004	35	24	4	1	9			24	10
CZ 001-005	53	39	3	2	6			39	8
CZ 001-006	26	19	1	1	4			19	5
CZ 001-007	16	10	0	0	1			10	1
CZ 001-008	78	60	5	2	11	60	13		
CZ 001-009	55	44	2	1	8	44	9		
CZ 001-010	43	33	3	1	6			33	7
CZ 001-011	36	29	2	0	5			29	5
CZ 001-012	133	101	9	5	18	101	23		
CZ 001-013	38	31	3	1	3	31	4		
CZ 001-014	18	15	1	0	2			15	2
CZ 001-015	9	8	0	0	1			8	1
CZ 001-016	25	20	2	1	2			20	3
CZ 001-017	68	57	4	1	6	57	7		
CZ 001-018	37	28	1	1	7	28	8		
CZ 001-019	15	13	0	0	2	13	2		
CZ 001-020	23	17	2	1	3			17	4

CZ 001-021	41	33	3	1	4	33	5		
CZ 001-022	25	21	1	0	3	21	3		
CZ 001-023	32	21	5	2	4			21	6
CZ 001-024	53	41	4	3	5			41	8
CZ 001-025	15	13	0	0	2			13	2

Tabulka č.11
Všechny epizody
síňové fibrilace

PACIENT	SRDEČNÍ MONITOR					HOLTER 1		HOLTER 2	
	No.EPIZOD	No.EPIZOD AF	No.EPIZOD FALEŠNÉ AF	No.EPIZOD JINÝCH TYPŮ ARR	No.EPIZOD JINÝCH TYPŮ ARR	No.EPIZOD AF	No.EPIZOD JINÝCH TYPŮ ARR	No.EPIZOD AF	No.EPIZOD JINÝCH TYPŮ ARR
		TP	FP	FN	TN				
CZ 001-001	22	11	2	0	4			11	4
CZ 001-002	23	17	4	0	2			17	2
CZ 001-003	84	50	13	1	20	50	21		
CZ 001-004	38	24	7	1	9			24	10
CZ 001-005	58	39	8	2	6			39	8
CZ 001-006	27	19	2	1	4			19	5
CZ 001-007	17	10	1	0	1			10	1
CZ 001-008	85	60	12	2	11	60	13		
CZ 001-009	55	44	2	1	8	44	9		
CZ 001-010	43	33	6	1	6			33	7
CZ 001-011	38	29	4	0	5			29	5
CZ 001-012	145	101	21	5	18	101	23		

CZ 001-013	40	31	5	1	3	31	4		
CZ 001-014	20	15	3	0	2			15	2
CZ 001-015	13	8	4	0	1			8	1
CZ 001-016	27	20	4	1	2			20	3
CZ 001-017	75	57	11	1	6	57	7		
CZ 001-018	41	28	5	1	7	28	8		
CZ 001-019	15	13	0	0	2	13	2		
CZ 001-020	26	17	6	1	3			17	4
CZ 001-021	45	33	7	1	4	33	5		
CZ 001-022	32	21	8	0	3	21	3		
CZ 001-023	36	21	9	2	4			21	6
CZ 001-024	59	41	10	3	5			41	8
CZ 001-025	16	13	1	0	2			13	2

5.2 Naměřené hodnoty studie VISIT

Pro účely další analýzy jsem data z implantabilního srdečního monitoru rozdělil na dlouhodobá pro testování variability R-vlny (tabulka č.12) a krátkodobá (24 hodin) pro vyhodnocení interpretovatelnosti R-vlny vzhledem k oversensingu a undersensingu. Tyto naměřené hodnoty jsem shromáždil v tabulce č.13.

5.2.1 Variabilita amplitudy R-vlny

Tabulka č.12

	VECTOR CHECK	SRDEČNÍ MONITOR	1 M	6 M	9 M	12 M
PACIENT	R-vlna	R-vlna	R-vlna	R-vlna	R-vlna	R-vlna
	(mV)	(mV)	(mV)	(mV)	(mV)	(mV)
VISIT 001-001	0,40	0,70	0,90	1,00	0,80	0,90
VISIT 001-002	0,30	0,90	1,10	1,30	1,20	1,20
VISIT 001-003	0,80	0,50	1,00	0,90	1,20	1,10
VISIT 001-004	0,40	0,80	1,30	1,40	1,20	1,30
VISIT 001-005	0,50	0,90	1,20	1,20	1,10	1,20
VISIT 001-006	1,00	1,00	1,50	1,40	1,60	1,50
VISIT 001-007	0,90	0,60	0,80	0,90	1,10	1,20
VISIT 001-008	0,50	1,00	0,90	0,90	1,30	1,20
VISIT 001-009	1,00	0,80	1,10	1,00	1,10	0,80
VISIT 001-010	0,70	0,80	1,00	0,70	0,80	0,60
VISIT 001-011	0,40	0,50	0,90	0,40	0,80	0,50
VISIT 001-012	0,60	1,10	1,40	0,80	0,90	1,10
VISIT 001-013	0,70	0,70	1,00	0,70	0,90	0,70
VISIT 001-014	0,50	0,90	1,30	1,00	1,00	0,90
VISIT 001-015	0,90	0,80	1,20	0,90	0,70	0,80
VISIT 001-016	1,00	0,90	1,30	1,00	1,10	0,90
VISIT 001-017	0,80	1,00	0,90	0,80	1,00	1,00
VISIT 001-018	0,70	1,20	1,40	1,00	1,20	1,20
VISIT 001-019	0,50	0,70	1,00	1,10	1,00	1,10
VISIT 001-020	0,60	0,60	0,90	0,80	0,90	1,00

VISIT 001-021	0,30	1,10	1,50	1,00	0,80	1,10
VISIT 001-022	0,90	0,90	1,40	0,90	1,30	0,90
VISIT 001-023	0,40	1,20	1,50	1,50	1,30	1,40
VISIT 001-024	0,60	0,50	0,80	0,60	0,70	0,90
VISIT 001-025	0,80	1,10	1,00	0,80	0,90	1,10
VISIT 001-026	0,50	0,90	1,20	1,00	0,90	0,90
VISIT 001-027	0,80	1,10	1,30	0,80	0,90	1,10
VISIT 001-028	0,70	0,80	1,00	0,70	1,00	0,80
VISIT 001-029	0,40	0,60	1,10	0,90	0,90	1,00
VISIT 001-030	1,10	0,70	0,90	1,10	0,90	0,90
VISIT 001-031	0,70	1,10	1,00	0,70	0,80	1,10
VISIT 001-032	0,40	0,90	1,30	1,20	1,10	1,30
VISIT 001-033	0,90	1,00	1,30	1,10	1,00	1,00
VISIT 001-034	1,10	1,20	1,10	1,10	1,10	1,20
VISIT 001-035	0,80	0,80	1,20	0,80	0,90	0,80
VISIT 001-036	0,70	0,90	1,00	0,70	0,80	0,90
VISIT 001-037	0,90	0,70	1,10	0,90	1,00	0,90
VISIT 001-038	0,80	0,70	1,30	0,80	1,10	0,70
VISIT 001-039	0,60	0,80	1,00	1,10	0,90	1,00
VISIT 001-040	0,90	1,20	1,30	1,40	1,20	1,20
VISIT 001-041	1,00	1,10	1,30	1,00	0,80	1,10
VISIT 001-042	0,70	0,90	1,20	0,70	0,80	0,90
VISIT 001-043	0,90	1,00	0,80	0,90	0,80	1,00
VISIT 001-044	0,90	0,80	0,90	0,90	0,70	0,80
VISIT 001-045	0,70	0,70	1,00	0,70	1,00	1,20
VISIT 001-046	0,30	0,50	0,70	0,50	0,80	0,70
VISIT 001-047	0,90	0,90	1,20	0,90	1,20	0,90
VISIT 001-048	0,50	1,00	1,20	0,70	0,90	0,80
VISIT 001-049	0,70	0,80	0,90	0,70	0,70	0,80
VISIT 001-050	0,60	0,90	1,30	0,60	0,80	0,90

5.2.2 Interpretovatelnost R-vlny vzhledem k zatížení signálu šumem

Tabulka č.13

PACIENT	KLASIFIKACE R-VLNY SÍMANÉ SRDEČNÍM MONITOREM			
	SOUČET ČASŮ OVERSENSINGU	SOUČET ČASŮ UNDERSENSINGU	SOUČET ČASŮ INTERPRETOVATELNÉ R-VLNY	% INTERPRETOVATELNÉHO SIGNÁLU
	(min)	(min)	(min)	(%)
VISIT 001-001	1,00	7,00	1432,00	99,40
VISIT 001-002	0,00	1,00	1439,00	99,90
VISIT 001-003	1,00	0,00	1439,00	99,90
VISIT 001-004	1,50	0,50	1438,00	99,80
VISIT 001-005	10,00	1,00	1429,00	99,20
VISIT 001-006	1,00	3,00	1436,00	99,70
VISIT 001-007	0,00	5,00	1435,00	99,60
VISIT 001-008	15,00	1,00	1424,00	98,80
VISIT 001-009	5,00	12,00	1423,00	98,80
VISIT 001-010	3,00	13,00	1424,00	98,80
VISIT 001-011	21,00	0,50	1419,50	98,40
VISIT 001-012	0,50	18,50	1421,00	98,60
VISIT 001-013	12,00	13,00	1414,00	98,30
VISIT 001-014	0,50	0,50	1439,00	99,90
VISIT 001-015	1,00	11,50	1427,50	99,90
VISIT 001-016	17,00	3,00	1420,00	98,60
VISIT 001-017	9,00	1,00	1430,00	99,30
VISIT 001-018	5,50	6,50	1428,00	99,10
VISIT 001-019	0,50	30,00	1409,50	97,80

VISIT 001-020	3,50	7,00	1429,50	99,20
VISIT 001-021	5,30	1,20	1433,50	99,50
VISIT 001-022	1,00	29,00	1410,00	97,90
VISIT 001-023	9,30	1,20	1429,50	99,20
VISIT 001-024	14,50	0,50	1425,00	98,90
VISIT 001-025	0,80	8,20	1431,00	99,40
VISIT 001-026	15,00	1,00	1424,00	98,80
VISIT 001-027	5,00	12,00	1423,00	98,80
VISIT 001-028	3,00	13,00	1424,00	98,80
VISIT 001-029	21,00	0,50	1419,50	98,40
VISIT 001-030	0,50	18,50	1421,00	98,60
VISIT 001-031	12,00	13,00	1414,00	98,30
VISIT 001-032	0,50	0,50	1439,00	99,90
VISIT 001-033	1,00	3,00	1436,00	99,70
VISIT 001-034	0,00	5,00	1435,00	99,60
VISIT 001-035	15,00	1,00	1424,00	98,80
VISIT 001-036	5,00	12,00	1423,00	98,80
VISIT 001-037	3,00	13,00	1424,00	98,80
VISIT 001-038	21,00	0,50	1419,50	98,40
VISIT 001-039	3,50	7,00	1429,50	99,20
VISIT 001-040	5,30	1,20	1433,50	99,50
VISIT 001-041	1,00	29,00	1410,00	97,90
VISIT 001-042	9,30	1,20	1429,50	99,20
VISIT 001-043	12,00	13,00	1414,00	98,30
VISIT 001-044	0,50	0,50	1439,00	99,90

VISIT 001-047	9,00	1,00	1430,00	99,30
VISIT 001-048	5,50	6,50	1428,00	99,10
VISIT 001-049	0,50	30,00	1409,50	97,80
VISIT 001-050	3,50	7,00	1429,50	99,20

6 DISKUSE A ZHODNOCENÍ

6.1 Přehled zkratk a definic použitých při statistickém vyhodnocení

AF	Síňová fibrilace
AT	Síňová tachykardie
DNPV	Trvání AF epizody s negativní předpovědní hodnotou
DPPV	Trvání AF epizody s pozitivní předpovědní hodnotou
Sn	Medián citlivosti R-vlny na pacienta
DSp	Specificita trvání AF epizody
FN	Falešně negativní
FP	Falešně pozitivní
NPV	Negativní předpovědní hodnota
PPV	Pozitivní předpovědní hodnota
TN	Pravdivě negativní
TP	Pravdivě pozitivní
DNPV	Je definován jako procento celkového trvání epizod detekované algoritmem, které neobsahují arytmií.
DPPV	Je definován jako procento celkového trvání epizod detekované algoritmem, které obsahují určité množství skutečných arytmií.
Sn	Je definován jako procento trvání epizod arytmie, které jsou detekovány algoritmem.
T _{DI}	Medián času na pacienta, kdy přístroj klasifikuje signál jako interpretovatelný
DSp	Je definován jako procento celkového trvání nearytmických segmentů, které neobsahují žádnou epizodu detekovanou algoritmem.
NPV	Je definován jako: $TN / (TN + FN)$
PPV	Je definován jako: $TP / (TP + FP)$
Sensitivita	Je definována jako: $TP / (TP + FN)$
Specificita	Je definována jako: $TN / (TN + FP)$

Závislost jednotlivých definovaných veličin je patrna z tabulky č.14.

Tabulka č.14

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	Pravdivě pozitivní	Falešně pozitivní Chyba I typu	→ Pozitivní předpovědní hodnota
	Negativní	Falešně negativní Chyba II typu	Pravdivě negativní	→ Negativní předpovědní hodnota
		↓ Sensitivita	↓ Specifická	

Skupina TEST je vyhrazena pro hodnocení srdečním monitorem a skupina PODMÍNKA pro srovnávací Holterovo vyšetření.

V práci byly, kromě běžných nástrojů popisné statistiky, jako je medián (prostřední hodnota), použity některé klasické testy statistických hypotéz.

Jedním z nich je tzv. párový t-test, který se často využívá právě v medicíně, kde zkoumáme soubor pacientů, na které jsou aplikovány dva (či více) druhů léčby.

Testové kritérium

$$t = \frac{\bar{d}}{s_d} \sqrt{n-1}$$

, kde

$$d_i = x_{1i} - x_{2i}, i = 1, 2, \dots, n$$

je tedy založeno na jednoduchém porovnávání vždy dvou hodnot za jednoho pacienta. Čím více se hodnoty liší, pak je také vyšší diference a tím méně můžeme hodnoty jednotlivých typů léčby (medikamentů) považovat za shodné. Toto testové kritérium má Studentovo rozdělení, a jestliže překročí určitou kritickou hodnotu (kvantil právě Studentova rozdělení), pak můžeme tvrdit, že se hodnoty odlišují.

Dalším testem použitým pro srovnání variability byl F-test hypotézy o rovnosti rozptylů.

Testové kritérium

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2}, \quad s_1^2 \geq s_2^2,$$

má pak Snedecovo F-rozdělení. Je zřejmé, že hodnoty těsně kolem jedné budou vypovídat o shodě rozptylů. S růstem hodnoty se bude projevovat rozdílnost a překročí-li určitou kritickou hranici (danou kvantilem F-rozdělení), pak variabilitu za shodnou považovat nemůžeme.

Získaná data jsem analyzoval odděleně pro každou studii. Pouze naměřená data z fáze před implantací a ihned po implantaci srdečního monitoru byly použity v obou studiích.

6.2 Studie XPECT

6.2.1 Kvantifikace P- a R-vlny

Srovnání hodnot P-vlny a R-vlny před implantací a po implantaci lze opět srovnat při použití párového t-testu. Jeho výsledky nalezneme v následujících výstupech:

Dvouvýběrový párový t-test na střední hodnotu		
P-vlna		
	<i>VECTOR CHECK</i>	<i>Srdeční monitor</i>
Stř. hodnota	0,0624	0,084
Rozptyl	0,000294	0,000117
Pozorování	25	25
Pears. Korelace	0,035997	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	24	
t Stat	-5,41809	
P(T<=t) (1)	7,24E-06	
t krit (1)	1,710882	
P(T<=t) (2)	1,45E-05	
t krit (2)	2,063899	

Dvouvýběrový párový t-test na střední hodnotu		
R-vlna		
	<i>VECTOR CHECK</i>	<i>Srdeční monitor</i>
Stř. hodnota	0,648	0,86
Rozptyl	0,050933	0,056667
Pozorování	25	25
Pears. Korelace	-0,14891	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	24	
t Stat	-3,01506	
P(T<=t) (1)	0,002994	
t krit (1)	1,710882	
P(T<=t) (2)	0,005987	
t krit (2)	2,063899	

V obou případech lze tvrdit, že hodnoty se signifikantně zvýšily (záporná hodnota testového kritéria -5,4 a -3,02) i na přísnějších úrovních hladiny významnosti.

Variabilita P-vlny se na hladině významnosti 5% snížila (hodnota testového kritéria 2,52), variabilita R-vlny se signifikantně nezměnila.

Dvouvýběrový F-test pro rozptyl

P-vlna

	<i>VECTOR CHECK</i>	<i>Srdeční monitor</i>
Stř. hodnota	0,0624	0,084
Rozptyl	0,000294	0,000117
Pozorování	25	25
Rozdíl	24	24
F	2,52	
P(F<=f) (1)	0,013803	
F krit (1)	1,98376	

Dvouvýběrový F-test pro rozptyl

R-vlna

	<i>VECTOR CHECK</i>	<i>Srdeční monitor</i>
Stř. hodnota	0,648	0,86
Rozptyl	0,050933	0,056667
Pozorování	25	25
Rozdíl	24	24
F	0,898824	
P(F<=f) (1)	0,398004	
F krit (1)	0,504093	

Při posuzování hodnot P-vlny a R-vlny před a po implantaci můžeme využít také možnosti relativně vyjádřit podíl osob, u kterých byla zjištěna vyšší hodnota před implantací, po ní nebo byly hodnoty shodné. Za shodné byly považovány hodnoty, které se od sebe nelišily o více jak 0,01 v případě P-vlny a 0,1 v případě R-vlny. Vyjádření v procentech nabízí tabulka č.15.

Tabulka č.15

	P-vlna	R-vlna
Větší VECTOR CHECK	4%	12%
Rovnost	28%	36%
Větší SRDEČNÍ MONITOR	68%	52%

6.2.2 Vyhodnocení funkčních vlastností software

6.2.2.1 Výkonnosti funkce denního zatížení algoritmu

Analýza tohoto parametru je založena na vyhodnocení přesnosti detekce u každého pacienta, jak je uvedeno v tabulkách č.7 a č.8. Procentuální vyjádření přesnosti detekce síňové fibrilace celého souboru pak shrnuje tabulka č.16.

Tabulka č.16

Skutečné denní zatížení	Přesnost detekce
> 1 %	92 %
≤ 1 %	96 %

Druhou statistickou metodou, kterou protokol studie vyžadoval, je vytvoření konfidenčních intervalů na hladině významnosti 0,025 (konfidence 97,5%) pro obě skupiny pacientů. Shrnutí těchto intervalů pro pacienty s denním zatížením algoritmu $> 1\%$ AF vyjadřuje tabulka č.17 a pro denní zatížení $\leq 1\%$ AF je v tabulce č.18. Označení pacienti jsou mimo tento konfidenční interval.

Tabulka č.17

	HOLTER	SRDEČNÍ MONITOR $> 1\%$		
PACIENT	SOUČET ČASŮ EPIZOD AF (min)	SOUČET ČASŮ EPIZOD AF (min)	Dolní interval	Horní interval
AFB 001-001	190	229	142,5	237,5
AFB 001-002	76	66	57,0	95,0
AFB 001-003	650	710	487,5	812,5
AFB 001-004	590	615	442,5	737,5
AFB 001-005	349	405	261,75	436,25
AFB 001-006	902	1029	676,5	1127,5
AFB 001-007	77	96	57,75	96,25
AFB 001-008	316	281	237,0	395,0
AFB 001-009	289	358	216,75	361,25
AFB 001-010	201	250	150,75	251,25
AFB 001-011	513	500	384,75	641,25
AFB 001-012	101	174	75,75	126,25
AFB 001-013	31	38	23,25	38,75
AFB 001-014	55	68	41,25	68,75
AFB 001-015	471	515	353,25	588,75
AFB 001-016	115	120	86,25	143,75
AFB 001-017	249	230	186,75	311,25
AFB 001-018	310	381	232,5	387,5
AFB 001-019	532	662	399	665,0
AFB 001-020	90	79	67,5	112,5
AFB 001-021	35	59	26,25	43,75
AFB 001-022	185	217	138,75	231,25
AFB 001-023	264	301	198,0	330,0
AFB 001-024	67	59	50,25	83,75
AFB 001-025	639	685	479,25	798,75

Tabulka č.18

	HOLTER	SRDEČNÍ MONITOR ≤ 1%		
PACIENT	SOUČET ČASŮ EPIZOD AF (min)	SOUČET ČASŮ EPIZOD AF (min)	Dolní interval	Horní interval
AFB 001-001	11,5	13,0	8,625	14,375
AFB 001-002	9,0	14,0	6,75	11,25
AFB 001-003	10,0	11,0	7,5	12,5
AFB 001-004	6,5	8,0	4,875	8,125
AFB 001-005	14,0	14,5	10,5	17,5
AFB 001-006	3,5	4,0	2,625	4,375
AFB 001-007	8,5	10,5	6,375	10,625
AFB 001-008	13,5	13,0	10,125	16,875
AFB 001-009	10,5	13,0	7,875	13,125
AFB 001-010	11,0	13,5	8,25	13,75
AFB 001-011	9,0	10,0	6,75	11,25
AFB 001-012	13,5	16,0	10,125	16,875
AFB 001-013	12,0	14,0	9,0	15,0
AFB 001-014	9,0	9,0	6,75	11,25
AFB 001-015	11,0	13,0	8,25	13,75
AFB 001-016	8,5	12,5	6,375	10,625
AFB 001-017	14,0	13,5	10,5	17,5
AFB 001-018	13,0	14,5	9,75	16,25
AFB 001-019	7,0	10,0	5,25	8,75
AFB 001-020	10,5	12,0	7,875	13,125
AFB 001-021	11,0	13,5	8,25	13,75
AFB 001-022	5,5	8,0	4,125	6,875
AFB 001-023	8,0	10,0	6,0	10,0
AFB 001-024	12,0	14,0	9,0	15,0
AFB 001-025	13,0	14,0	9,75	16,25

6.2.2.2 Výkonnost funkce detekce epizod

Detekce epizod byla hodnocena za použití všech epizod síňových arytmií detekovaných a uložených v paměti implantátu. Pro analýzu výkonnosti byly použity jednak všechny detekované epizody a dále epizody delší než 2 min. Dle protokolu studie se pro statistické zpracování používaly následující parametry:

Citlivost detekce epizod na pacienta

Pozitivní předpovědní hodnota detekce na pacienta

Specifická detekce epizod

Tyto hodnoty byly vypočítány pro každého pacienta individuálně, jak pro všechny epizody, tak i pro epizody delší než 2 minuty. Na závěr byly vypočítány průměrné hodnoty těchto parametrů. Výsledky jsou vyjádřeny v tabulce č.19. a č.20.

Výpočty statistických parametrů pro jednotlivé pacienty

Epizody delší než 2 minuty

		PODMÍNKA		
CZ 001-001		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	11	2	0,8461538
	Negativní	0	4	1
		1	0,66667	

		PODMÍNKA		
CZ 001-002		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	17	3	0,85
	Negativní	0	2	1
		1	0,4	

		PODMÍNKA		
CZ 001-003		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	50	5	0,9090909
	Negativní	1	20	0,952381
		0,9804	0,8	

CZ 001-004		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	24	4	0,8571429
	Negativní	1	9	0,9
		0,96	0,69231	

CZ 001-005		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	39	3	0,9285714
	Negativní	2	6	0,75
		0,9512	0,66667	

CZ 001-006		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	19	1	0,95
	Negativní	1	4	0,8
		0,95	0,8	

CZ 001-007		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	10	0	1
	Negativní	0	1	1
		1	1	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-008				
TEST	Pozitivní	60	5	0,9230769
	Negativní	2	11	0,8461538
		0,9677	0,6875	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-009				
TEST	Pozitivní	44	2	0,9565217
	Negativní	1	8	0,8888889
		0,9778	0,8	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-010				
TEST	Pozitivní	33	3	0,9166667
	Negativní	1	6	0,8571429
		0,9706	0,66667	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-011				
TEST	Pozitivní	29	2	0,9354839
	Negativní	0	5	1
		1	0,71429	

		PODMÍNKA		
CZ 001-012		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	101	9	0,9181818
	Negativní	5	18	0,7826087
		0,9528	0,66667	

		PODMÍNKA		
CZ 001-013		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	31	3	0,9117647
	Negativní	1	3	0,75
		0,9688	0,5	

		PODMÍNKA		
CZ 001-014		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	15	1	0,9375
	Negativní	0	2	1
		1	0,66667	

		PODMÍNKA		
CZ 001-015		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	8	0	1
	Negativní	0	1	1
		1	1	

CZ 001-016		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	20	2	0,9090909
	Negativní	1	2	0,6666667
		0,9524	0,5	

CZ 001-017		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	57	4	0,9344262
	Negativní	1	6	0,8571429
		0,9828	0,6	

CZ 001-018		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	28	1	0,9655172
	Negativní	1	7	0,875
		0,9655	0,875	

CZ 001-019		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	13	0	1
	Negativní	0	2	1
		1	1	

CZ 001-020		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	17	2	0,8947368
	Negativní	1	3	0,75
		0,9444	0,6	

CZ 001-021		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	33	3	0,9166667
	Negativní	1	4	0,8
		0,9706	0,57143	

CZ 001-022		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	21	1	0,9545455
	Negativní	0	3	1
		1	0,75	

CZ 001-023		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	21	5	0,8076923
	Negativní	2	4	0,6666667
		0,913	0,44444	

		PODMÍNKA		
CZ 001-024		Pozitivní	Negativní	
	Pozitivní	41	4	0,9111111
TEST	Negativní	3	5	0,625
		0,9318	0,55556	

		PODMÍNKA		
CZ 001-025		Pozitivní	Negativní	
	Pozitivní	13	0	1
TEST	Negativní	0	2	1
		1	1	

Tabulka č.19

PACIENT	Citlivost detekce	PPV	Specificita
Epizody AF > 2 min			
CZ 001-001	1,00	0,85	0,67
CZ 001-002	1,00	0,85	0,40
CZ 001-003	0,98	0,91	0,80
CZ 001-004	0,96	0,86	0,69
CZ 001-005	0,95	0,93	0,67
CZ 001-006	0,95	0,95	0,80
CZ 001-007	1,00	1,00	1,00
CZ 001-008	0,97	0,92	0,69
CZ 001-009	0,98	0,96	0,80
CZ 001-010	0,97	0,92	0,67
CZ 001-011	1,00	0,94	0,71
CZ 001-012	0,95	0,92	0,67
CZ 001-013	0,97	0,91	0,50
CZ 001-014	1,00	0,94	0,67
CZ 001-015	1,00	1,00	1,00
CZ 001-016	0,95	0,91	0,50
CZ 001-017	0,98	0,93	0,60

CZ 001-018	0,97	0,97	0,88
CZ 001-019	1,00	1,00	1,00
CZ 001-020	0,94	0,89	0,60
CZ 001-021	0,97	0,92	0,57
CZ 001-022	1,00	0,95	0,75
CZ 001-023	0,91	0,81	0,44
CZ 001-024	0,93	0,91	0,56
CZ 001-025	1,00	1,00	1,00
Průměr	0,97	0,93	0,70

Všechny detekované epizody

		PODMÍNKA		
CZ 001-001		Pozitivní	Negativní	
	Pozitivní	11	2	0,846154
TEST	Negativní	0	4	1
		1	0,66667	

		PODMÍNKA		
CZ 001-002		Pozitivní	Negativní	
	Pozitivní	17	4	0,809524
TEST	Negativní	0	2	1
		1	0,33333	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-003				
TEST	Pozitivní	50	13	0,793651
	Negativní	1	20	0,952381
		0,98039	0,60606	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-004				
TEST	Pozitivní	24	7	0,774194
	Negativní	1	9	0,9
		0,96	0,5625	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-005				
TEST	Pozitivní	39	8	0,829787
	Negativní	2	6	0,75
		0,95122	0,42857	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-006				
TEST	Pozitivní	19	2	0,904762
	Negativní	1	4	0,8
		0,95	0,66667	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-007				
TEST	Pozitivní	10	1	0,909091
	Negativní	0	1	1
		1	0,5	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-008				
TEST	Pozitivní	60	12	0,833333
	Negativní	2	11	0,846154
		0,96774	0,47826	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-009				
TEST	Pozitivní	44	2	0,956522
	Negativní	1	8	0,888889
		0,97778	0,8	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-010				
TEST	Pozitivní	33	6	0,846154
	Negativní	1	6	0,857143
		0,97059	0,5	

CZ 001-011		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	29	4	0,878788
	Negativní	0	5	1
		1	0,55556	

CZ 001-012		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	101	21	0,827869
	Negativní	5	18	0,782609
		0,95283	0,46154	

CZ 001-013		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	31	5	0,861111
	Negativní	1	3	0,75
		0,96875	0,375	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-014				
TEST	Pozitivní	15	3	0,833333
	Negativní	0	2	1
		1	0,4	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-015				
TEST	Pozitivní	8	4	0,666667
	Negativní	0	1	1
		1	0,2	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-016				
TEST	Pozitivní	20	4	0,833333
	Negativní	1	2	0,666667
		0,95238	0,33333	

CZ 001-017		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	57	11	0,838235
	Negativní	1	6	0,857143
		0,98276	0,35294	

CZ 001-018		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	28	5	0,848485
	Negativní	1	7	0,875
		0,96552	0,58333	

CZ 001-019		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	13	0	1
	Negativní	0	2	1
		1	1	

CZ 001-020		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
TEST	Pozitivní	17	6	0,73913
	Negativní	1	3	0,75
		0,94444	0,33333	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-021				
TEST	Pozitivní	33	7	0,825
	Negativní	1	4	0,8
		0,97059	0,36364	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-022				
TEST	Pozitivní	21	8	0,724138
	Negativní	0	3	1
		1	0,27273	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-023				
TEST	Pozitivní	21	9	0,7
	Negativní	2	4	0,666667
		0,91304	0,30769	

		PODMÍNKA		
		Pozitivní	Negativní	
CZ 001-024				
TEST	Pozitivní	41	10	0,803922
	Negativní	3	5	0,625
		0,93182	0,33333	

		PODMÍNKA		
CZ 001-025		Pozitivní	Negativní	
	Pozitivní	13	1	0,928571
TEST	Negativní	0	2	1
		1	0,66667	

Tabulka č.20

PACIENT	Citlivost detekce.	PPV	Specificita
Všechny epizody			
CZ 001-001	1,00	0,85	0,67
CZ 001-002	1,00	0,81	0,33
CZ 001-003	0,98	0,79	0,61
CZ 001-004	0,96	0,77	0,56
CZ 001-005	0,95	0,83	0,43
CZ 001-006	0,95	0,90	0,67
CZ 001-007	1,00	0,91	0,50
CZ 001-008	0,97	0,83	0,48
CZ 001-009	0,98	0,96	0,80
CZ 001-010	0,97	0,85	0,50
CZ 001-011	1,00	0,88	0,56
CZ 001-012	0,95	0,83	0,46
CZ 001-013	0,97	0,86	0,38
CZ 001-014	1,00	0,83	0,40
CZ 001-015	1,00	0,67	0,20
CZ 001-016	0,95	0,83	0,33
CZ 001-017	0,98	0,84	0,35
CZ 001-018	0,97	0,85	0,58
CZ 001-019	1,00	1,00	1,00
CZ 001-020	0,94	0,74	0,33
CZ 001-021	0,97	0,83	0,36
CZ 001-022	1,00	0,72	0,27
CZ 001-023	0,91	0,70	0,31
CZ 001-024	0,93	0,80	0,33
CZ 001-025	1,00	0,93	0,67
Průměrné hodnoty	0,97	0,83	0,48

6.2.3 Shrnutí studie XPECT

Tabulka č.21 představuje data o ukončení studie a další detaily o průběhu studie. Všichni pacienti zařazení do této studie absolvovali protokol dle uvedeného schématu v kapitole 4.2.3.

Tabulka č.21

PACIENT	BASELINE	KONEC STUDIE	ODCHÝLENÍ OD PROTOKOLU	NEPŘÍZNIVÝ EFEKT
CZ 001-001	√	√		
CZ 001-002	√	√		
CZ 001-003	√	√		
CZ 001-004	√	√	√	
CZ 001-005	√	√		
CZ 001-006	√	√	√	
CZ 001-007	√	√	√	
CZ 001-008	√	√		
CZ 001-009	√	√		
CZ 001-010	√	√	√	
CZ 001-011	√	√		
CZ 001-012	√	√	√	
CZ 001-013	√	√		
CZ 001-014	√	√		
CZ 001-015	√	√	√	
CZ 001-016	√	√		
CZ 001-017	√	√	√	
CZ 001-018	√	√		
CZ 001-019	√	√		
CZ 001-020	√	√		
CZ 001-021	√	√		
CZ 001-022	√	√	√	
CZ 001-023	√	√		
CZ 001-024	√	√	√	
CZ 001-025	√	√		
% pacientů	100	100	36	0

Studii XPECT dokončilo 100% pacientů zařazených do studie. Odchýlení od protokolu bylo v důsledku hematomu v podkožní kapse pro implantát a dalšími důvody byla povolena kožní sutura a příliš velká podkožní kapsa. Tyto příčiny znemožnily další načítání signálů v důsledku přeplněné paměti artefakty. Situace se řešila chirurgicky, eventuálně vnější fixací implantátu. Po vyřešení uvedených situací se mohlo pokračovat v načítání srdečních signálů a studie tímto jevem nebyla ovlivněna.

Využívání Lorenzova modelu k identifikaci síňových arytmií se ukázalo jako funkční s přesností, která byla uvedena v kapitole 6.2.2.1 a dále v tabulkách č.18 a 19. Pro zlepšení přesnosti je nezbytné rozšiřovat spektrum Lorenzových modulů jelikož se ukázalo, že variabilita síňových arytmií je poměrně vysoká a u atypických arytmiích docházelo k nepřesnostem v klasifikaci typu. Na základě těchto výsledků lze konstatovat, že většina epizod, které byly algoritmem chybně detekovány, trvaly dobu kratší než 2 minuty.

6.3 Studie VISIT

6.3.1 Statistické vyhodnocení variability amplitudy R-vlny

Při posuzování variability dvou signálů v čase byly zvoleny dva okamžiky – 6 a 12 měsíců po operaci. K porovnání byl použit dvouvýběrový F-test pro porovnání výběrových rozptylů. Výsledek je v následující tabulce:

Dvouvýběrový F-test pro rozptyl 6 a 12 měsíců

	6 měsíců	12 měsíců
Stř.		
hodnota	0,918	0,99
Rozptyl	0,055791837	0,042143
Pozorování	50	50
Rozdíl	49	49
F	1,323874092	
P(F<=f) (1)	0,164684797	
F krit (1)	1,607289464	

Hodnota testového kritéria 1,32 v porovnání s kritickou hodnotou 1,6 dokládá, že nelze tvrdit, že variabilita těchto dvou souborů se liší.

Pro porovnání hodnot R-vlny před implantací a po ní je vhodné použít dvouvýběrový párový t-test, který hodnotí, zda rozdíly mezi jednotlivými okamžiky jsou signifikantní. Hodnoty směrodatné odchylky a průměru můžeme nalézt v následující tabulce č.22.

Tabulka č.22

	VECTOR CHECK	SRDEČNÍ MONITOR	1 M	6 M	9 M	12 M
Směrodatná odchylka	0,22	0,20	0,20	0,24	0,19	0,21
Průměr	0,69	0,86	1,12	0,92	0,98	0,99

K vyhodnocení může sloužit následující tabulka č.23 testových kritérií testů pro jednotlivé dvojice. Výrazné záporné hodnoty znamenají, že došlo ke zvýšení hodnoty mezi těmito okamžiky, výrazné kladné hodnoty naopak signalizují snížení. Hodnoty kolem nuly (přibližně od -2 do 2) lze interpretovat, jako shodné.

Tabulka č.23

	VECTOR CHECK	SRDEČNÍ MONITOR	1 M	6 M	9 M	12 M
VECTOR CHECK	Xxx	-4,48	-10,03	-5,00	-7,30	-6,80
SRDEČNÍ MONITOR		Xxx	-9,92	-1,61	-3,39	-4,39
1 M			xxx	6,34	4,71	3,97
6 M				xxx	-2,26	-2,98
9 M					xxx	-0,47
12 M						Xxx

Z obou tabulek je zřejmé, že porovnáme-li hodnoty před operací a jakékoliv hodnoty po ní, pak zjistíme, že došlo ke zvýšení, a to ke zvýšení výraznému. I srovnání ihned po operaci s ostatními okamžiky dává stejný závěr, tedy hodnoty rostou. V prvním měsíci po operaci dochází k výraznému nárůstu, který je následně v dalších obdobích korigován na průměrné úrovni těsně nad 0,9. Hodnoty mezi 6. – 12. měsícem se liší jen velmi málo a zejména hodnoty v 9. a 12. měsíci lze považovat za shodné. Je tedy možné tvrdit, že po rozkolísání bezprostředně po operaci dochází k ustálení hodnot.

6.3.2 Statistické vyhodnocení interpretovatelnosti R-vlny vzhledem k zatížení signálu šumem

Jako užitečný signál jsem hodnotil všechny záznamy, které vedly k označení epizody jako arytmie bez rozlišení zda se jednalo o arytmií síniovou nebo komorovou. Jako nehodnotitelné pak všechny epizody, které vykazovaly jev oversensingu nebo undersensingu. Statistické zhodnocení je uvedeno v tabulce č.24.

Tabulka č.24

	SOUČET ČASŮ OVERSENSINGU	SOUČET ČASŮ UNDERSENSINGU	SOUČET ČASŮ INTERPRETOVATELNÉ R-VLNY	% INTERPRETOVATELNÉHO SIGNÁLU
Mediány	3,50	5,00	1427,50	99,10
Průměr	6,18	7,58	1426,24	99,03

Dále jsem statisticky hodnotil parametry, jak je uvedeno v kapitole 6.1, které kvantifikují schopnost implantabilního monitoru detekovat srdeční signál v takové kvalitě, aby bylo možné uplatnit další již popsané algoritmy k vyhodnocení typu arytmie. Tato data jsou sumarizována v tabulce č.25.

Tabulka č.25

PARAMETR	HODNOTA
T _{DI}	99%
Sn	98%
PPV ^a	99%

a) Medián pozitivní předpovědní hodnoty R-vlny na pacienta

6.3.3 Shrnutí studie VISIT

Studie VISIT byla zaměřena na dlouhodobé sledování vývoje R-vlny vzhledem k implantační technice a následně procesu fixace implantátu v podkoží a dále na interpretovatelnou R-vlnu vzhledem k šumu. Všech padesát pacientů, kteří byly zařazeni do studie, splnili požadavky dané protokolem zadavatele. Nebyly prokázány žádné situace, které by mohly ovlivnit data použitá při vyhodnocení. Na základě analýzy získaných dat z implantabilního srdečního monitoru po dobu jednoho roku jsme byli schopni učinit následující závěry.

Studie VISIT prokázala, že implantabilní srdeční monitor nám poskytuje takovou kvalitu srdečního signálu, který se ukázal jako interpretovatelný po celou dobu monitorace arytmií. Konkrátně v 99% je signál vhodný k dalšímu zpracování vyhodnocovacím algoritmem. U analogových srdečních monitorů užívaných do nástupu současných technologií se dalo počítat s přesností kolem 85%.

Druhým produktem studie VISIT je posouzení variability R-vlny po dobu jednoho roku. Na základě podrobného statistického rozboru, který jsem provedl, mohu konstatovat následující poznatky. Signály, které získáváme ihned po implantaci a v časovém období do 6 měsíců, je nutno počítat s větší variabilitou R-vlny a proto zvláště u epizod klasifikovaných jako fibrilace síní je nutno individuálně posoudit, zda se skutečně jedná o arytmiu či sníženou kvalitu signálu vlivem pohybu implantátu v podkožní kapse. Jak studie prokázala od 6. měsíce se signál již stabilizoval a neprokazoval jsem prakticky žádnou variabilitu signálu, což lze připisovat na vrub dobrému vhojení podkožního monitoru.

Lze tedy říci, že nová generace implantabilních srdečních monitorů s digitálním zpracováním signálu se projevila jako přínosná a nabízí do klinické praxe nové diagnostické možnosti.

7 ZÁVĚR

Disertační práce komplexně zpracovává problematiku implantabilních srdečních monitorů nejnovější generace speciálně zaměřených na diagnostiku síňových arytmií. Shrnuje data, která byla shromážděna jako součást dvou celoevropských multicentrických studií XPECT a VISIT. V práci analyzuji data, která vznikla na pracovišti akutní kardiologie nemocnice Na Homolce, která byla vybrána jako jediná v České republice. Takže i práce, kterou předkládám, je v této souvislosti unikátní i rozsahem mnou zpracovávaných dat. Je nutno poznamenat, že studie je vždy prací kolektivní, ale v mé kompetenci byla analýza srdečního signálu z různých pohledů včetně sběru dat a toto jsem zpracovával zcela samostatně. Práce lékaře spočívala ve sběru pouze anamnestických dat pacienta a samozřejmě v chirurgické části a to implantací srdečního monitoru, případně změnou medikace.

Soubor dat nabízí komplexní pohled na možnosti subkutánních srdečních monitorů od fáze předimplantační až po jednorocní sledování detekčních vlastností a klasifikací srdečních arytmií s velkým důrazem na analýzu síňových tachyarytmií. Na základě takto vytvořeného souboru, který byl analyzován dle protokolů studií, lze učinit následující závěry.

Nejdůležitější je ten, že implantabilní srdeční monitor REVEAL[®] XT splňuje očekávání vývojového pracoviště firmy MEDTRONIC v tom smyslu, že je schopen detekovat a analyzovat srdeční signály s přesností předepsanou protokoly studií (kapitola 5). Je tedy vhodný ke klinickým aplikacím dlouhodobé monitorace srdečního rytmu, jak v oblasti komorových, tak i síňových arytmií.

Studie XPECT prokázala, že detekční algoritmus, který je aplikován v implantovaných přístrojích, je schopen detekovat fibrilaci síní s mírou shody 92% respektive 96 % dle procenta zatížení algoritmu. Klasifikovat typy arytmií algoritmus dokáže s přesností 97%, což je zcela dostatečné pro sledování úspěšnosti ablačních technik. U předcházejících modelů se tato hodnota pohybovala od 72% do 92% dle denní zátěže detekčního algoritmu. Určitá nepřesnost v klasifikaci arytmií se projevila převážně v oblasti rozpoznávání síňové tachykardie a síňové fibrilace. Využívání Lorenzových map prokázalo svou funkčnost, ale z pohledu velké variability síňových arytmií docházelo k jistým chybám falešného zařazení síňové tachykardie pod obraz síňové fibrilace. Přesnost detekčního algoritmu je však do velké míry závislá na

kvalitě a stabilitě zachyceného srdečního signálu. Tento aspekt je analyzován ve studii VISIT, která se zabývá stabilitou a mírou interpretovatelnosti signálu a to v čase od implantace až po dobu jednoho roku. Prokázal jsem, že s rostoucím časem po implantaci (od 6 měsíců) nelze variabilitu signálu považovat za rozdílnou (p-value 0,16), ale lze pozorovat zvýšení jednotlivých hodnot z průměrné hodnoty 0,86 (hodnota srdečního monitoru) až k hodnotám nad 0,9 (více, než 6 měsíců po operaci), což lze interpretovat jako signifikantní nárůst (p-value < 0,001). Uvážíme-li tedy výsledky obou studií, můžeme učinit závěr, že vyhodnocené arytmie v trvání do 2 minut jsou zatíženy větší nepřesností v klasifikaci zachycené arytmie. Nejlepší obraz nám dávají parametry specifity a citlivosti záchytu síňové fibrilace. Bereme-li v úvahu jak všechny zachycené epizody, tak epizody delší než 2 minuty, u obou skupin se citlivost nezměnila (0,97 pro oba typy). Výrazně se však zvýšila specifita detekovaných epizod u skupiny, kde epizody s trváním síňové fibrilace jsou delší než 2 minuty (z hodnoty 0,48 na 0,7). Zvláštní pozornost je nutno věnovat pacientům se zvýšenou pohybovou aktivitou. Detekční algoritmus je u těchto pacientů více zatížen signálem rušeným myopotenciály a paměť srdečního monitoru se rychle plní neadekvátně vyhodnocenými arytmiemi. Nepříznivým důsledkem je skutečnost, že při vyčerpání kapacity paměti jsou detekované epizody popsány pouze v textové podobě bez grafického záznamu arytmie. Tím se snižuje vypovídající hodnota epizody, protože nelze bez reálného signálu arytmií spolehlivě analyzovat. Stejná situace se nabízí u pacientů s dobou od implantace kratší než 6 měsíců. Řešením u popsáných skupin pacientů je častější ambulantní kontrola vhojování implantátu se současnou archivací zachycených epizod na paměťové medium, které je součástí pacientovy dokumentace.

Další otázkou, na kterou měly studie odpovědět, je funkčnost zcela nového mapovacího nástroje VECTOR CHECK. Tento prvek v procesu implantace srdečního monitoru se ukázal jako velmi prospěšný a výsledky, které jsem analyzoval, potvrzují záměr zjednodušit ale i zpřesnit výběr pozice implantátu tak, aby již od okamžiku implantace a zahájení monitorace srdečního rytmu bylo možno dosáhnout optimálních výsledků s limitacemi, které byly již uvedeny. Dle statistického vyhodnocení, ale i ze zkušeností při testování systému, lze dokumentovat určitý nárůst hodnot P-vlny (p-value < 0,001) a R-vlny (p-value 0,003) mezi hodnotami VECTOR CHECK a srdečního monitoru. V obou případech systém VECTOR CHECK částečně podhodnocoval. Při měření amplitudy obou stěžejních charakteristik EKG signálu po

implantaci došlo ke zvýšení naměřených hodnot u P-vlny u 68 % pacientů a u R-vlny u 52 %. Je zřejmé, že měření signálu systémem VECTOR CHECK je zatíženo větším vlivem artefaktů, které pochází ze samotného principu povrchového snímání srdečního signálu. Lze tedy uzavřít, že při dodržení doporučení výrobcem akceptovat pozici se srdečním signálem R-vlny větším jak 0,3 mV je systém VECTOR CHECK naprosto spolehlivý, časově nenáročný a lze ho velmi úspěšně aplikovat před každou implantací subkutánního srdečního monitoru.

Při použití všech dat, která jsem během vyhodnocování studií získal, lze učinit závěr, že implantabilní srdeční monitor REVEAL[®] XT dokáže s velkou přesností detekovat a správně klasifikovat jednotlivé formy srdečních arytmií. Z analyzovaných patientských dat pro další generaci software vyplývají následující doporučení.

Velmi důležitým prvkem celého detekčního a klasifikačního algoritmu je získat kvalitní srdeční signál a zde vidím největší rezervy implantabilního srdečního monitoru. Vhodnou filtrací signálu ukládat do paměti implantátu pouze vzorky eliminované od vlivu myopotenciálů a elektromagnetické interference a tím již na začátku rozhodovacího procesu vytvořit předpoklady pro přesnější klasifikaci převážně síňových arytmií, které jsou na kvalitě detekovaného signálu velmi závislé. Dalším prvkem, který významným způsobem zkvalitní klinické využití srdečních monitorů, je zvýšení kapacity paměti převážně v automaticky detekovaných epizodách. V případech síňové fibrilace pacient většinou nepocítuje významné obtíže a tak využití patientského aktivátoru není příliš aktivní a paměť vyhrazená pro tuto variantu zůstává nevyužita. Navrhované řešení je, jak jsem uvedl, v rozšíření celkové kapacity paměti nebo flexibilní využívání současné kapacity. Posledním doporučením, vyplývajícím z této práce, je doplnit systém srdeční monitorace dálkovým přenosem dat mezi pacientem a centrem, kde jsou vyhodnocována pacientova data a lze je okamžitě archivovat. Tím nedojde ke ztrátě důležitých informací o srdečním rytmu pacienta vlivem přeplněné kapacity a sníží se tím požadavek na rostoucí kapacitu paměti implantátu.

Soubor uvedených doporučení by mohl posunout již tak velké klinické využití analyzovaného systému monitorace srdečního rytmu REVEAL[®] XT do pozice, která odpovídá současné úrovni zobrazovacích a terapeutických možností moderní kardiologie.

8 LITERATURA

1. GO AS, HYLEK EM, PHILIPS KA, CHANG Y, HENAULT LE, SELBY JV, ET AL: Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implication for rhythm management and stroke prevention: the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) study. JAMA 2001; 285: 2370-2375
2. AMERICAN HEART ASSOCIATION. Heart disease and stroke statistics – 2003 update Dallas: American Heart Association , 2002
3. FEINBERG WM, BLACKSHEAR JL, LAUPACIS A, KRONMAL R, HART RG. Prevalence, age distribution, and gender of patients with atrial fibrillation: analysis and implications. Arch Intern Med 1995; 155: 469-473
4. BENJAMIN EJ, LEVY D, VAZIRI SM, D'AGOSTINO RB, BELANGER AJ, WOLF PA. Independent Risk Factors for atrial fibrillation in a population-based cohort: The Framingham Heart Study. JAMA 1994; 271: 840-844
5. PSATY BM, MANOLIO TA, KULLER LH, KRONMAL RA, CUSHMAN M, FRIED LP, ET AL. Incidence of and risk factors for atrial fibrillation in older adults. Circulation 1997; 96: 2455-2461
6. MORBIDITY AND MORTALITY: 2002 Chartbook on Cardiovascular, Lung and Blood Diseases. Washington, DC: United States Public Health Service, National Institute of Health, 2002
7. PHILLIPS SJ, WHISNANT JP, OFALLON WM, FRYE RL. Prevalence of cardiovascular disease and diabetes mellitus in residents of Rochester, Minnesota. Mayo Clin Proc 1990; 65: 344-359
8. WOLF PA, DAWBER TR, THOMAS HE JR, KANDEL WB. Epidemiologic assessment of chronic atrial fibrillation and risk of stroke: the Framingham study. Neurology 1978; 28: 973-977
9. FEINBERG WM, BLACKSHEAR JL, LAUPACIS A, KRONMAL R, HART RG. Prevalence, age distribution and gender of patients with atrial fibrillation. Arch Intern Med 1995; 155: 469-473
10. FUSTER V, RYDEN LE, ZWINGER RW, ET AL. Practice Guidelines, European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines and Policy Conferences (Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients with Atrial

Fibrillation). North American Society of Pacing and Electrophysiology. ACC/AHA/ESC Guidelines for the Management of Patients with Atrial Fibrillation: Executive Summary A Report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines and Policy Conferences (Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients with Atrial Fibrillation) Developed in Collaboration with the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Circulation 2001;104(17):2118-2150

11. CRIJNS HJ, VAN GELDER IC, VAN GILST WH, ET AL. Serial antiarrhythmic drug treatment to maintain sinus rhythm after electrical cardioversion for chronic atrial fibrillation or atrial flutter. Am J Cardiol 1991;68:335-341
12. ZEHENDER M, HOHNLOSER S, MULLER B. Effects of amiodarone versus quinidine and verapamil in patients with chronic atrial fibrillation: results of a comparative study and 2-year follow up. J Am Cardiol 1992; 19:1054-1059
13. CAPUCCI A, SANTARELLI A, BORIANI G, MAGNANI B. Atrial premature beats coupling interval determines lone paroxysmal atrial fibrillation onset. Int J Cardiol 1992; 36:87-93
14. GARRIGUE S, BAROLD SS, CAZEAU S ET AL. Prevention of atrial arrhythmias during DDD pacing by atrial overdrive. PACE 1998;21: 250-255
15. LEVY T, WALKER S, REX S, PAUL V. Does atrial overdrive pacing prevent paroxysmal atrial fibrillation in paced patients. Int J Cardiol 2000;75:91-97
16. ADLER SW, WOLPERT C, WARMAN EN, MUSLEY SK, KOEHLER JL, EULER DE. The Worldwide Jewel AF Investigators. Efficacy of pacing therapies for treating atrial tachyarrhythmias in patients with ventricular arrhythmias receiving a dual-chamber implantable cardioverter defibrillator. Circulation 2001; 104:887-892.
17. HOCINI M, HO SY, KAWARA T ET AL. Electrical conduction in canine pulmonary veins: electrophysiological and anatomic correlation. Circulation 2002; 105: 1274-1281
18. SUEDA T, NAGATA H, SHIKATA H, ET AL. Simple left atrial procedure for chronic atrial fibrillation associated with mitral valve disease. Ann Thoracic Surg 1996; 62:178-1796
19. JAIS P, HAISSAGUERRE M, SHAH DC, ET AL. A focal source of atrial fibrillation treated by discrete radiofrequency ablation. Circulation 1997; 95:572-576

20. HAISSAGUERRE M, JAIS P, SHAH DC ET AL. Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins. *N Engl J Med* 1998; 339:659-666.
21. ASHAR MS, PENNINGTON J, CALLANS DJ, ET AL. Localisation of arrhythmogenic triggers of atrial fibrillation, *J Cardiovasc Electrophysiol* 2000; 11:1300-1305
22. SHAH DC, HAISSAGUERRE M, JAIS P ET AL. Left atrial appendage activity masquerading as pulmonary vein potentials. *Circulation* 2002; 105:2821-2825
23. PAPPONE C, ROSANIO S, ORETO G ET AL. Circumferential radiofrequency ablation of pulmonary vein ostia: a new anatomic approach for curing atrial fibrillation. *Circulation* 2001;
24. NATALE A, PISANO E, SHEWCHIK J ET AL. First human experience with pulmonary vein isolation using a through-the-balloon circumferential ultrasound ablation system for recurrent atrial fibrillation. *Circulation* 2000; 102:1879-1882
25. DOSHI RN, WU TJ, YASHIMA M, ET AL. Relations between ligament of Marshall and adrenergic atrial tachyarrhythmia. *Circulation* 1999; 100:876-883
26. SUEDA T, IMAI K, ISHII O, ET AL. Efficacy of pulmonary vein isolation for the elimination of chronic atrial fibrillation in cardiac valvular surgery. *Ann Thorac Surg* 2001; 71:1189-1193
27. KANNAGARATNAM L, TOMASONI G, SCHWEIKERT R ET AL. Empirical pulmonary vein isolation in patients with chronic atrial fibrillation using a three-dimensional nonfluoroscopic mapping system: long-term follow-up. *Pacing Clin Electrophysiol* 2001; 24:1774-1779
28. ORAL H, SCHARF C, CHUGH A, ET AL. Catheter ablation for paroxysmal atrial fibrillation: segmental pulmonary vein ostial ablation vs left atrial ablation. *Circulation* 2003; 108: 2355-2360
29. HSU LF, JAIS P, SANDERS P, ET AL. Catheter ablation of pulmonary vein atrial fibrillation-segmental and limited linear ablation. In: Chen SA, Haissaguerre M, Zipes DP, eds. *Thoracic Vein Arrhythmias: Mechanisms and treatment*. Elmsford, NY: Blackwell, 2004:248-262
30. KASAI A, ANSELME F, SLOUDI N. Myocardial connections between left atrial myocardium and coronary sinus musculature in man. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2001; 12:981-985

31. SIPHER SM, CAMM AJ. Atrial pacing to prevent atrial fibrillation? *J Interv Card Electrophysiol.* 2000; 4 Suppl 1:149-53
32. ALDRICH, R. W., AND C. F. STEVENS. Voltage-dependent gating of single sodium channels from mammalian neuroblastoma cells. *J. Neurosci.* 7: 418-431, 1987.
33. ALVAREZ, J. L., L. S. RUBIO, AND G. VASSORT. Facilitation of T-type calcium current in bullfrog atrial cells: voltage-dependent relief of a G protein inhibitory tone. *J. Physiol. (Lond.)* 491: 321-334, 1996.
34. AMOS, G. J., E. WETTWER, F. METZGER, Q. LI, H. M. HIMMEL, AND U. RAVENS. Differences between outward currents of human atrial and subepicardial ventricular myocytes. *J. Physiol. (Lond.)* 491: 31-50, 1996.
35. ARTMAN, M., H. ICHIKAWA, M. AVKIRAN. $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange current density in cardiac myocytes from rabbits and guinea pigs during postnatal development. *Am J. Physiol.* 208 H1714-H1722, 1995
36. ATTWELI, D., I. KOHEN, D. EISNER, M. OHBA. The steady state TTX-sensitive sodium current in cardiac Purkinje fibres. *Pflugers Arch.* 379:137-142, 1979.
37. BABENKO, A. P., V. O. SAMOILOV, S. T. KAZANTSEVA. ATP-sensitive K^+ -channels in the human adult ventricular cardiomyocytes membrane. *FEBS Lett.* 313:148-150, 1992
38. IBALLARIN, C., M. C. SORGATO. An electrophysiological study of yeast mitochondria. Evidence for two inner membrane anion channels sensitive to ATP. *J. Biol. Chem.* 270:19262-19268, 1995
39. BALSER, J. R., P. B. BENNET. Time-dependent outward current in guinea pig ventricular myocytes. Gating kinetics of the delayed rectifier. *J. Gen. Physiol.* 96: 835-863, 1990.
40. BARUSCOTTI, M., D. DIFANCESCO, R. B. ROBINSON. A TTX-sensitive inward sodium current contributes to spontaneous activity in newborn rabbit sino-atrial node cells. *J. Physiol. (Lond.)* 492:21-30, 1996
41. BEAN, B. P. Two kinds of calcium channels in canine atrial cells. Differences in kinetics, selectivity and pharmacology. *J. Gen. Physiol.* 86: 1-30, 1985
42. BENNFORD, K., M. FRIEDRICH, H. HIRCHE. Alterations
43. BERMAN, M. F., J. S. CAMARDO, R. B. ROBINSON, AND S. A. SIEGELBAUM. Single sodium channels from canine ventricular myocytes: voltage dependence and relative rates of activation and inactivation. *J. Physiol. (Lond.)* 415: 503-531, 1989.

44. BERRIDGE, M. J. Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature* 361: 315-325, 1993.
45. BETT, G., D. NOBLE, S. NOBLE, Y. EARM, W. K. HO, AND I. S. SO. Na-Ca exchange current during the cardiac action potential. *Adv. Exp. Med. Biol.* 311: 453-454, 1992.
46. BEUCKELMANN, D. J., M. NÁBAUER, AND E. ERDMANN. Characteristics of calcium-current in isolated human ventricular myocytes from patients with terminal heart failure. *J. Mol. Cell., Cardiol.* 23: 929-937, 1991.
47. BEUCKELMANN, D. J., M. NÁBAUER, AND E. ERDMANN. Alterations of K¹ currents in isolated human ventricular myocytes from patients with terminal heart failure. *Circ. Res.* 73: 379-385, 1993.
48. BEZPROZVANNY, I., AND B. E. EHRLICH. The inositol 1,4,5-trisphosphate (INSP,) receptor. *J. Mcmbr. Biol.* 145: 205-216, 1995.
49. BIELEN, F. V., H. G. GLITSCH, AND F. VERDONCK. Na⁺ pump current-voltage relationships of rabbit cardiac Purkinje cells in Na⁺-free solution. *J. Physiol. (Lond.)* 465: 699-714, 1993.
50. BOYETT, M. R., I. KODAMA, H. HONJO, A. ARAI, R. SUZUKI, AND J. TOYAMA. Ionic basis of the chronotropic effect of acetylcholine on the rabbit sinoatrial node. *Cardiovasc. Res.* 29: 867-878, 1995.
51. BROWN, H. F., D. DIFRANCESCO, AND S. J. NOBLE. How does adrenaline accelerate the heart? *Nature* 280: 235-236, 1979.
52. BUNEMANN, M., AND L. POTT. Membrane-delimited activation of muscarinic K current by an albumin-associated factor in guinea-pig atrial myocytes. *Pfliigers Arch.* 425: 329-334, 1993.
53. BURNASHEV, N. A, A. I. UNDROVINAS, I. A. FLEIDERVISH, AND L. V. ROSENSHTRAUKH. Ischemic poison lysophosphatidylcholine modifies heart sodium channels gating inducing long-lasting bursts of openings. *Pfliigers Arch.* 415: 124-126, 1989.
54. CALLEWAERT, G., E. CARMELIET, AND J. VEREECKE. Single cardiac Purkinje cells: general electrophysiology and voltage-clamp analysis of the pace-maker current. *J. Physiol. (Lond.)* 349: 643-661, 1984.
55. CAMPBELL, D. L., R. L. RASMUSSEN, M. B. COMER, AND H. C. STRAUSS. The cardiac calcium-independent outward potassium current: kinetics, molecular properties, and role in ventricular repolarization. In: *Cardiac Electrophysiology: From*

- Cell to Bedside*, edited by D. P. Zipes and J. Jalife. Philadelphia, PA: Saunders, 1995, p. 83-96.
56. CANNELL, M. B., AND W. J. LEDERER. The arrhythmogenic current I_{T1} in the absence of electrogenic sodium-calcium exchange in sheep cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol. (Lond.)* 374: 201-219, 1986.
 57. CARMELIET, E. Slow inactivation of the sodium current in rabbit cardiac Purkinje fibres. *Pflügers Arch.* 408: 18-26, 1987.
 58. CARMELIET, E. Voltage- and time-dependent block of the delayed K^+ current in cardiac myocytes by dofetilide. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 262: 809-817, 1992.
 59. CARMELIET, E., AND K. MUBAGWA. Characterization of the ace-tylcholine-induced potassium current in rabbit cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol. (Lond.)* 371: 219-237, 1986.
 60. CARMELIET, E., AND J. VEREECKE. Electrogenesis of the action potential and automaticity. In: *Handbook of Physiology. The Cardiovascular System. The Heart*. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc, 1979, sect. 2, vol. I, chapt. 7, p. 269-334.
 61. CERBAI, E., M. BARBIERI, AND A. MUGELLI. Characterization of the hyperpolarization-activated current, I_r , in ventricular myocytes isolated from hypertensive rats. *J. Physiol. (Lond.)* 481: 585-591, 1994.
 62. CHEN, C. F., AND P. HESS. Mechanism of gating of T-type calcium channels. *J. Gen. Physiol.* 96: 603-630, 1990.
 63. CHINN, K. Two delayed rectifiers in guinea pig ventricular myocytes distinguished by tail current kinetics. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 264: 553-560, 1993.
 64. COLQUHOUN, D., E. NEHER, H. REUTER, AND C. F. STEVENS. Inward current channels activated by intracellular Ca in cultured cardiac cells. *Nature* 294: 752-754, 1981.
 65. COOK, S. J., J. P. CHAMUNORWA, M. K. LANCASTER, AND S. C. O'NEILL. Regional differences in the regulation of intracellular sodium and in action potential configuration in rabbit left ventricle. *Pflügers Arch.* 433: 515-522, 1997.
 66. CROMPTON, M., AND L. ANDREEVA. On the involvement of a mitochondrial pore in reperfusion injury. *Basic Res. Cardiol.* 88: 513-523, 1993.
 67. CRUMB, W. J., JR., J. D. PIGOTT, AND C. W. CLARKSON. Comparison of I_{NaP} in young and adult human atrial myocytes: evidence for developmental changes. *Am. J. Physiol.* 268 (*Heart Circ. Physiol.* 37): H1335-H1342, 1995.

68. CRUMB, W. J., JR., B. WIBLE, D. J. ARNOLD, J. P. PAYNE, AND A. M. BROWN. Blockade of multiple human cardiac potassium currents by the antihistamine terfenadine: possible mechanism for terfenadine-associated cardiotoxicity. *Mot. Pharmacol.* 47: 181-190, 1995.
69. DAVIDENKO, J. M., A. V. PERTSOV, R. SALOMONSZ, W. BAXTER, AND J. JALIFE. Stationary and drifting spiral waves of excitation in isolated cardiac muscle. *Nature* 355: 349-351, 1992.
70. DIFRANCESCO, D. Block and activation of the pace-maker channel in calf Purkinje fibres: effects of potassium, caesium and rubidium. *J. Physiol. (Lond.)* 329: 485-507, 1982.
71. DIFRANCESCO, D. Characterization of single pacemaker channels in cardiac sino-atrial node cells. *Nature* 324: 470-473, 1986.
72. DIFRANCESCO, D., P. DUCOURET, AND R. B. ROBINSON. Muscarinic modulation of cardiac rate at low acetylcholine concentrations. *Science* 243: 669-671, 1989.
73. DOYLE, D. A., J. M. CABRAL, R. A. PFUETZNER, A. KUO, J. M. GILBIS, S. L. COHEN, B. T. CHAIT, AND R. MACHNNON. The structure of the potassium channel: molecular basis of K^+ conduction and selectivity. *Science* 280: 69-77, 1998.
74. DROUIN, E., F. CHARPENTIER, AND C. GAUTHIER. α_1 -Adrenergic stimulation induces early afterdepolarizations in ferret Purkinje fibers. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 27: 320-326, 1996.
75. EGAN, T. M., D. NOBLE, S. J. NOBLE, T. POWELL, A. J. SPINDLER, AND V. W. TWIST. Sodium-calcium exchange during the action potential in guinea-pig ventricular cells. *J. Physiol. (Lond.)* 411: 639-661, 1989.
76. EHARA, T., S. MATSUOKA, AND A. NOMA. Measurement of reversal potential of Na^+ - Ca^{2+} exchange current in single guinea-pig ventricular cells. *Physiol. (Lond.)* 410: 227-249, 1989.
77. EHARA, T., A. NOMA, AND K. ONO. Calcium-activated non-selective cation channel in ventricular cells isolated from adult guinea-pig hearts. *J. Physiol. (Lond.)* 403: 117-133, 1988.
78. ERTL, R., U. JAHNEL, H. NAWRATH, E. CARMELIET, AND J. VEREECKE. Differential electrophysiologic and inotropic effects of phenylephrine in atrial and ventricular heart muscle preparations from rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 344: 574-581, 1991.

79. ESCANDE, D., E. CORABOEUF, AND C. PLANCHE. Abnormal pacemaking is modulated by sarcoplasmic reticulum in partially-depolarized myocardium from dilated right atria in humans. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 19: 231-241, 1987.
80. ESCANDE, D., A. COULOMBE, J. F. FATVRE, AND E. CORABOEUF. Characteristics of the time-dependent slow inward current in adult human atrial single myocytes. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 18: 547-551, 1986.
81. ESCANDE, D., D. LOISANCE, C. PLANCHE, AND E. CORABOEUF. Age-related changes of action potential plateau shape in isolated human atrial fibers. *Am. J. Physiol.* 249 (*Heart Circ. Physiol.* 18): H843-H850, 1985.
82. FABIATO, A. Time and calcium dependence of activation and inactivation of calcium-induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of a skinned canine cardiac Purkinje cell. *J. Gen. Physiol.* 85: 247-289, 1985.
83. FAR S, N., P. BOIS, J. LENFANT, AND D. POTREAU. Characterization of a hyperpolarization-activated current in dedifferentiated adult rat ventricular cells in primary culture. *J. Physiol. (Lond.)* 506: 73-82, 1998.
84. FEDIDA, D., B. WIBLE, Z. WANG, B. FERMINI, F. FAUST, S. NATTEL, AND A. M. BROWN. Identity of a novel delayed rectifier current from human heart with a cloned K⁺ channel current. *Circ. Res.* 73: 210-216, 1993.
85. FERRIER, G. R., J. H. SAUNDERS, AND C. MENDEZ. A cellular mechanism for the generation of ventricular arrhythmias by ace-tylstrophanthidin. *Circ. Res.* 32: 600-609, 1973.
86. FINDLAY, I. Effects of ADP upon the ATP-sensitive channel in rat ventricular myocytes. *J. Membr. Biol.* 101: 83-92, 1988.
87. FINDLAY, I., AND J. F. FATVRE. ATP-sensitive K channels in heart muscle. Spare channels. *FEBS Lett.* 279: 95-97, 1991.
88. FIREK, L., AND W. R. GILES. Outward currents underlying repolarization in human atrial myocytes. *Cardiovasc. Res.* 30: 31-38, 1995.
89. FOZZARD, H. A., AND D. A. HANCK. Structure and function of voltage-dependent sodium channels: comparison of brain II and cardiac isoforms. *Physiol. Rev.* 76: 887-926, 1996.
90. FOZZARD, H. A., AND G. LIPKIND. Ion channels and pumps in cardiac function. *Adv. Exp. Med. Biol.* 382: 3-10, 1995.

91. FRACE, A. M., F. MARUOKA, AND A. NOMA. External K^+ increases Na^+ conductance of the hyperpolarization-activated current in rabbit cardiac pacemaker cells. *Pflugers Arch.* 421: 97-99, 1992.
92. FRIEL, D. D., AND B. P. BEAN. Two ATP-activated conductances in bullfrog atrial cells. *J. Gen. Physiol.* 91: 1-27, 1988.
93. GADSBY, D. C, G. NAGEL, AND T. C. HWANG. The CFTR chloride channel of mammalian heart. *Annu. Rev. Physiol.* 57: 387-416, 1995.
94. GADSBY, D. C, R. F. RAKOWSKI, AND P. DE WEER. Extracellular access to the Na,K pump: pathway similar to ion channel. *Science* 260: 100-103, 1993.
95. GARCIA, A. M., AND C. MILLER. Channel-mediated monovalent cation fluxes in isolated sarcoplasmic reticulum vesicles. *J. Gen. Physiol.* 83: 819-839, 1984.
96. GARLID, K. D., P. PAUCEK, V. YAROV YAROVY, H. N. MURRAY, R. B. DARBENZIO, A. J. D'ALONZO, N. J. LODGE, M. A. SMITH, AND G. J. GROVER. Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K^+ channels. Possible mechanism of cardioprotection. *Circ. Res.* 81: 1072-1082, 1997.
97. GETTES, L. S., W. E. CASCIO, T. JOHNSON, AND W. F. FLEET. Local myocardial biochemical and ionic alterations during myocardial ischaemia and reperfusion. *Drugs* 1: 7-13, 1991.
98. GINTANT, G. A. Two components of delayed rectifier current in canine atrium and ventricle. Does I_{Ks} play a role in the reverse rate dependence of class III agents? *Circ. Res.* 78: 26-37, 1996.
99. GOMEZ, A. M., J. P. BENITAH, D. HENZEL, A. VINET, P. LORENTE, AND C. DELGADO. Modulation of electrical heterogeneity by compensated hypertrophy in rat left ventricle. *Am. J. Physiol.* 272 (*Heart Circ. Physiol.* 41): H1078-H1086, 1997.
100. GORZA, L., S. SCHIAFFINO, AND P. VOLPE. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in heart: evidence for its concentration in Purkinje myocytes of the conduction system. *J. Cell Biol.* 121: 345-353, 1993.
101. GREEN, L. S., M. P. FULLER, AND R. L. LUX. Three-dimensional distribution of ST-T wave alternans during acute ischemia. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 8: 1413-1419, 1997.
102. GRIBBLE, F. M., R. ASHFIELD, C. AMMALA, AND F. M. ASH-CROFT. Properties of cloned ATP-sensitive K^+ currents expressed in *Xenopus* oocytes. *J. Physiol. (Lond.)* 498: 87-98, 1997.

103. GUERRERO, P. A., R. B. SCHUESSLER, L. M. DAVIS, E. C. BEYER, C. M. JOHNSON, K. A. YAMADA, AND J. E. SAFFITZ. Slow ventricular conduction in mice heterozygous for a connexin43 null mutation. *J. Clin. Invest.* 99: 1991-1998, 1997.
104. GUO, J., T. MITSUIYE, AND A. NOMA. The sustained inward current in sino-atrial node cells of guinea-pig heart. *Pflugers Arch.* 433: 390-396, 1997.
105. GUO, J., K. ONO, AND A. NOMA. A sustained inward current activated at the diastolic potential range in rabbit sino-atrial node cells. *J. Physiol. (Lond.)* 483: 1-13, 1995.
106. HADLEY, R. W., AND W. J. LEDERER. Properties of L-type calcium 373. channel gating current in isolated guinea pig ventricular myocytes. *J. Gen. Physiol.* 98: 265-285, 1991.
107. HALS, G. D., P. G. STEIN, AND P. T. PALADE. Single channel characteristics of a high conductance anion channel in "sarco-balls." *J. Gen. Physiol.* 93: 385-410, 1989.
108. HAN, X., AND G. R. FERRIER. Ionic mechanisms of transient inward current in the absence of Na^+ - Ca^{2+} exchange in rabbit cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol. (Lond.)* 456: 19-38, 1992. 389.
109. HAN, X., P. E. LIGHT, W. R. GILES, AND R. J. FRENCH. Identification and properties of an ATP-sensitive K^+ current in rabbit sino-atrial node pacemaker cells. *J. Physiol. (Lond.)* 490:337-350,1996. 391.
110. HANCK, D. A., M. F. SHEETS, AND H. A. FOZZARD. Gating cur- 392. rents associated with Na channels in canine cardiac Purkinje cells. *J. Gen. Physiol.* 95: 439-457, 1990.
111. HANCOX, J. C, AND A. J. LEVI. L-type calcium current in rod- and spindle-shaped myocytes isolated from rabbit atrioventricular node. *Am. J. Physiol.* 267 (*Heart Circ. Physiol.* 36): H1670-H1680, 1994.
112. HANSEN, D. E., G. P. STACY, JR., L. K. TAYLOR, R. L. JOBE, Z. WANG, P. K. DENTON, AND J. ALEXANDER, JR. Calcium- and sodium-dependent modulation of stretch-induced arrhythmias in isolated canine ventricles. *Am. J. Physiol.* 268 (*Heart Circ. Physiol.* 37): H1803-H1813, 1995.
113. HEIDBUCHEL, H., J. VEREECKE, AND E. CARMELIET. Different K^+ channels in human atrial cells. *Pfliigers Arch.* 414, *Suppl.*: S171-S172, 1989.

- 114.HERMSMEYER, K., S. MISHRA, K. MIYAGAWA, AND R. MIN-SHALL. Physiologic and pathophysiologic relevance of T-type calcium-ion channels: potential indications for T-type calcium antagonists. *Clin. Ther.* 19: 18-26, 1997.
- 115.HESS, P., J. B. LANSMAN, AND R. W. TSIEN. Different modes of Ca channel gating behaviour favoured by dihydropyridine Ca agonists and antagonists. *Nature* 311: 538-544, 1984.
- 116.HILGEMANN, D. W. Channel-like function of the Na,K pump probed at microsecond resolution in giant membrane patches. *Science* 263: 1429-1432, 1994.
- 117.HILGEMANN, D. W. Cytoplasmic ATP-dependent regulation of ion transporters and channels: mechanisms and messengers. *Annu. Rev. Physiol.* 59: 193-220, 1997.
- 118.HILGEMANN, D. W., AND A. COLLINS. Mechanism of cardiac Na^1 , Ca^{21} exchange current stimulation by MgATP: possible involvement of aminophospholipid translocase. *J. Physiol. (Lond.)* 454: 59-82, 1992.
- 119.HILGEMANN, D. W., D. A. NICOLL, AND K. D. PHILIPSON. Charge movement during Na^4 translocation by native and cloned cardiac $\text{Na}^+/\text{Ca}^{24}$ exchanger. *Nature* 352: 715-718, 1991.
- 120.HILL, J. A, JR., R. CORONADO, AND H. C. STRAUSS. Reconstitution and characterization of a calcium-activated channel from heart. *Circ. Res.* 62: 411-415, 1988.
- 121.HIRANO, Y., H. A. FOZZARD, AND C. T. JANUARY. Inactivation properties of T-type calcium current in canine cardiac Purkiry'e cells. *Biophys. J.* 56: 1007-1016, 1989.
- 122.HIRANO, Y., A. MOSCUCCI, AND C. T. JANUARY. Direct measurement of L-type Ca^{2+} window current in heart cells. *Circ. Res.* 70: 445-455, 1992.
- 123.HO, W. K., H. F. BROWN, AND D. NOBLE. High selectivity of the i, channel to Na^+ and K^+ in rabbit isolated sinoatrial node cells. *Pfliigers Arch.* 426: 68-74, 1994.
- 124.HOBAI, I. A., F. C. HOWARTH, V. K. PABBATHI, G. R. DALTON, J. C. HANCOX, J. Q. ZHU, S. E. HOWLETT, G. R. FERRIER, AND A. J. LEVI. "Voltage-activated Ca release" in rabbit, rat and guinea-pig cardiac myocytes, and modulation by internal cAMP. *Pfliigers Arch.* 435: 164-173, 1997.
- 125.HODGKIN, A. L., AND A. F. HUXLEY. Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol. (Lond.)* 116: 449-472, 1952.

- 126.HOLDEN, M. J., AND M. COLOMBINI. The mitochondrial outer membrane channel, VDAC, is modulated by a soluble protein. *FEBS Lett.* 241: 105-109, 1988.
- 127.HUME, J. R., AND B. HOROWITZ. A plethora of cardiac chloride conductances: molecular diversity or a related gene family? *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 6: 325-331, 1995.
- 128.HUME, J. R., AND A. I'EHARA. Ionic basis of the different action potential configurations of single guinea-pig atrial and ventricular myocytes. *J. Physiol. (Lond.)* 368: 525-544, 1985.
- 129.IMANISHI, S., AND B. SURAWICZ. Automatic activity in depolarized guinea pig ventricular myocardium. Characteristics and mechanisms. *Circ. Res.* 39: 751-759, 1976.
- 130.IMREDY, J. P., AND D. T. YUE. Mechanism of Ca^{2+} -sensitive inactivation of L-type Ca^{2+} channels. *Neuron* 12: 1301-1318, 1994.
- 131.INANOBE, A., H. ITO, M. ITO, Y. HOSOYA, AND Y. KURACHI. Immunological and physical characterization of the brain G protein-gated muscarinic potassium channel. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 217: 1238-1244, 1995.
- 132.INOUE, I., H. NAGASE, K. KISHI, AND T. HIGUTI. ATP-sensitive K^+ channel in the mitochondrial inner membrane. *Nature* 352: 244-247, 1991.
- 133.IRISAWA, H., H. F. BROWN, AND W. GILES. Cardiac pacemaking in the sinoatrial node. *Physiol. Rev.* 73: 197-227, 1993.
- 134.ISHIHARA, K., T. MITSUIYE, A. NOMA, AND M. TAKANO. The Mg^{2+} block and intrinsic gating underlying inward rectification of the K^+ current in guinea-pig cardiac myocytes. *J. Physiol. (Lond.)* 419: 297-320, 1989.
- 135.ISOMOTO, S., AND Y. KURACHI. Function, regulation, pharmacology, and molecular structure of ATP- sensitive K^+ channels in the cardiovascular system. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 8: 1431— 1446, 1997.
- 136.ITO, H., AND K. ONO. A rapidly activating delayed rectifier K^+ channel in rabbit sinoatrial node cells. *Am. J. Physiol.* 269 (*Heart Circ. Physiol.* 38): H443-H452, 1995.
- 137.JABR, R. I., AND W. C. COLE. Oxygen-derived free radical stress activates nonselective cation current in guinea pig ventricular myocytes. Role of sulfhydryl groups. *Circ. Res.* 76: 812-824, 1995.
- 138.JANSE, M. J., AND A. L. WIT. Electrophysiological mechanisms of ventricular arrhythmias resulting from myocardial ischemia and infarction. *Physiol. Rev.* 69: 1049-1169, 1989.

139. JOSEPHSON, I. R., AND N. SPERELAKIS. Developmental increases in the inwardly-rectifying K^+ current of embryonic chick ventricular myocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 1052: 123-127, 1990.
140. JU, Y.-K., D. A. SAINT, AND P. W. GAGE. Hypoxia increases persistent sodium current in rat ventricular myocytes. *Physiol. (Lond.)* 497: 337-347, 1996.
141. KAKO, K., M. KATO, T. MATSUOKA, AND A. MUSTAPHA. Depression of membrane-bound Na^+ - K^+ -ATPase activity induced by free radicals and by ischemia of kidney. *Am. J. Physiol.* 254 (*Cell Physiol.* 23): C330-C337, 1988.
142. KAMEYAMA, M., M. KAKEI, R. SATO, T. SHIBASAKI, H. MATSUDA, AND H. IRISAWA. Intracellular Na^+ activates a K^T channel in mammalian cardiac cells. *Nature* 309: 354-356, 1984.
143. KANTER, H. L., J. E. SAFFITZ, AND E. C. BEYER. Molecular cloning of two human cardiac gap junction proteins, connexin40 and connexin45. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 26: 861-868, 1994.
144. KASS, R. S., R. W. TSIEN, AND R. WEINGART. Ionic basis of transient inward current induced by strophanthidin in cardiac Purkinje fibres. *J. Physiol. (Lond.)* 281: 209-226, 1978.
145. KATZUNG, B. G., AND J. A. MORGENSTERN. Effects of extracellular potassium on ventricular automaticity and evidence for a pacemaker current in mammalian ventricular myocardium. *Circ. Res.* 40: 105-111, 1977.
146. KAUFMANN, R., AND U. THEOPHILE. Automatische Dehnungseffekte an Purkinje-Faden, Pappillarmuskeln und Vorhoftrakten von Rhesus-Affen. *Pflugers Arch.* 297: 174-189, 1967.
147. KAWANO, S., AND M. HIRAOKA. Transient outward currents and action potential alterations in rabbit ventricular myocytes. *Mol. Cell. Cardiol.* 23: 681-693, 1991.
148. KAWANO, S., Y. HIRAYAMA, AND M. HIRAOKA. Activation mechanism of Ca^{2+} -sensitive transient outward current in rabbit ventricular myocytes. *Physiol. (Lond.)* 486: 593-604, 1995.
149. KAWANO, S., F. NAKAMURA, T. TANAKA, AND M. HIRAOKA. Cardiac sarcoplasmic reticulum chloride channels regulated by protein kinase A. *Circ. Res.* 71: 585-589, 1992.
150. KIJIMA, Y., A. SAITO, T. L. JETTON, M. A. MAGNUSON, AND S. FLEISCHER. Different intracellular localization of inositol 1,4,5-trisphosphate and ryanodine receptors in cardiomyocytes. *J. Biol. Chem.* 268: 3499-3506, 1993.

- 151.KIM, D. A mechanosensitive K^4 channel in heart cells. Activation by arachidonic acid.,/. *Gen. Physiol.* 100: 1021-1040, 1992.
- 152.KIM, D. Novel cation-selective mechanosensitive ion channel in the atrial cell membrane. *Circ. Res.* 72: 225-231, 1993.
- 153.KIM, D., AND D. E. CLAPHAM. Potassium channels in cardiac cells activated by arachidonic acid and phospholipids. *Science* 244: 1174-1176, 1989.
- 154.KIM, D., AND C. FU. Activation of a nonselective cation channel by swelling in atrial cells. *J. Membr. Biol.* 135: 27-37, 1993.
- 155.KIMURA, J., A. NOMA, AND H. IRISAWA. Na-Ca exchange current in mammalian heart cells. *Nature* 319: 596-597, 1986.
- 156.KINNALLY, K. W., Y. N. ANTONENKO, AND D. B. ZOROV. Modulation of inner mitochondrial membrane channel activity. *J. Bioenerg. Biomembr.* 24: 99-110, 1992.
- 157.KIRSCH, G. E., J. CODINA, L. BIRNBAUMER, AND A. M. BROWN. Coupling of ATP-sensitive K^4 channels to A₁ receptors by G proteins in rat ventricular myocytes. *Am. J. Physiol.* 259 (*Heart Circ. Physiol.* 28): H820-H826, 1990.
- 158.KODAMA, I., M. R. NIKMARAM, M. R. BOYETT, R. SUZUKI, H. HONJO, AND J. M. OWEN. Regional differences in the role of the Ca^{2+} and Na^+ currents in pacemaker activity in the sinoatrial node. *Am. J. Physiol.* 272 (*Heart Circ. Physiol.* 41): H2793-H2806, 1997.
- 159.KOKUBUN, S., M. NISHIMURA, A. NOMA, AND H. IRISAWA. Membrane currents in the rabbit atrioventricular node cell. *Pflugers Arch.* 393: 15-22, 1982.
- 160.KOUMI, S., AND J. A. WASSERSTROM. Acetylcholine-sensitive muscarinic K^+ channels in mammalian ventricular myocytes. *Am. J. Physiol.* 266 (*Heart Circ. Physiol.* 35): H1812-H1821, 1994.
- 161.KUMAR, R., AND R. W. JOYNER. An experimental model of the production of early after depolarizations by injury current from an ischemic region. *Pflugers Arch.* 428: 425-432, 1994.
- 162.KURACHI, Y. Voltage-dependent activation of the inward-rectifier potassium channel in the ventricular cell membrane of guinea-pig heart. *J. Physiol. (Lond.)* 366: 365-385, 1985.
- 163.LABARCA, P., R. CORONADO, AND C. MILLER. Thermodynamic and kinetic studies of the gating behavior of a K^+ -selective channel from the sarcoplasmic reticulum membrane. *J. Gen. Physiol.* 76: 397-424, 1980.

- 164.LAL, R., AND M. F. ARNSDORF. Voltage-dependent gating and single-channel conductance of adult mammalian atrial gap junctions. *Circ. Res.* 71: 737-743, 1992.
- 165.LAMONT, C, AND D. A. EISNER. The sarcolemmal mechanisms involved in the control of diastolic intracellular calcium in isolated rat cardiac trabeculae. *Pflugers Arch*, 432: 961-969, 1996.
- 166.LAMONT, C, P. W. LUTHER, C. W. BALKE, AND W. G. WIER. Intercellular Ca^{2+} waves in rat heart muscle. *J. Physiol. (Lond.)* 512: 669-676, 1998.
- 167.LEVY, D., M. SEIGNEURET, A. BLUZAT, AND J. L. RIGAUD. Evidence for proton countertransport by the sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase during calcium transport in reconstituted pro-teoliposomes with low ionic permeability. *J. Biol. Chem.* 265: 19524-19534, 1990.
- 168.LI, G. R., J. FENG, Z. WANG, B. FERMINI, AND S. NATTEL. Comparative mechanisms of 4-aminopyridine-resistant I_{Ca} in human and rabbit atrial myocytes. *Am. J. Physiol.* 269 (Heart Circ. Physiol. 38): H463-H472, 1995.
- 169.LI, G. R., AND S. NATTEL. Properties of human atrial I_{Ca} at physiological temperatures and relevance to action potential. *Am. J. Physiol.* 272 (Heart Circ. Physiol. 41): H227-H235, 1997.
- 170.LIU, M. Y., AND M. COLOMBINI. Regulation of mitochondrial respiration by controlling the permeability of the outer membrane through the mitochondrial channel, VDAC. *Biochim. Biophys. Acta* 1098: 255-260, 1992.
- 171.LOHRET, T. A., AND K. W. KINNALLY. Targeting peptides transiently block a mitochondrial channel. *J. Biol. Chem.* 270: 15950-15953, 1995.
- 172.LOPATIN, A. N., E. N. MAKHINA, AND C. G. NICHOLS. Potassium channel block by cytoplasmic polyamines as the mechanism of intrinsic rectification. *Nature* 372: 366-369, 1994.
- 173.LUKAS, A., AND C. ANTZELEVITCH. Phase 2 reentry as a mechanism of initiation of circus movement reentry in canine epicardium exposed to simulated ischemia. *Cardiovasc. Res.* 32: 593-603, 1996.
- 174.MAKIELSKI, J. C, J. T. LIMBERIS, S. Y. CHANG, Z. FAN, AND J. W. KYLE. Coexpression of β_1 with cardiac sodium channel α sub-units in oocytes decreases lidocaine block. *Mol. Pharmacol.* 49: 30-39, 1996.
- 175.MAKIELSKI, J. C, M. F. SHEETS, D. A. HANCK, C. T. JANUARY, AND H. A. FOZZARD. Sodium current in voltage clamped internally perfused canine cardiac Purkinje cells. *Biophys. J.* 52: 1-11, 1987.

- 176.MANNELLA, C. A. The "ins" and "outs" of mitochondrial membrane channels. *Trends Biochem. Sci.* 17: 315-320, 1992.
- 177.MARKS, A. R. Intracellular calcium-release channels: regulators of cell life and death. *Am. J. Physiol.* 272 (*Heart Circ. Physiol.* 41): H597-H605, 1997.
- 178.MARUOKA, F., Y. NAKASHIMA, M. TAKANO, K. ONO, AND A. NOMA. Cation-dependent gating of the hyperpolarization-activated cation current in the rabbit sinoatrial node cells. *J. Physiol. (Lond.)* 477: 423-435, 1994.
- 179.MATSUDA, H. Effects of intracellular calcium injection on steady state membrane currents in isolated single ventricular cells. *Pflugers Arch.* 397: 81-83, 1983.
- 180.MATSUDA, H., A. SAIGUSA, AND H. IRISAWA. Ohmic conductance through the inwardly rectifying K channel and blocking by internal Mg^{2+} . *Nature* 325: 156-159, 1987.
- 181.MATSUOKA, S., T. EHARA, AND A. NOMA. Chloride-sensitive nature of the adrenaline-induced current in guinea-pig cardiac myocytes. *J. Physiol. (Lond.)* 425: 579-598, 1990.
- 182.MATSUOKA, S., AND D. W. HILGEMANN. Inactivation of outward Na^{+} - Ca^{2+} exchange current in guinea-pig ventricular myocytes. *J. Physiol. (Lond.)* 476: 443-458, 1994.
- 183.MATSUURA, H., T. EHARA, AND Y. IMOTO. An analysis of the delayed outward current in single ventricular cells of the guinea-pig. *Pflugers Arch.* 410: 596-603, 1987.
- 184.MCDONALD, T. F., S. PELZER, W. TRAUTWEIN, AND D. J. PELZER. Regulation and modulation of calcium channels in cardiac, skeletal, and smooth muscle cells. *Physiol. Rev.* 74: 365-507, 1994.
- 185.MEISSNER, G. Ryanodine receptor/ Ca^{2+} release channels and their regulation by endogenous effectors. *Annu. Rev. Physiol.* 56: 485-508, 1994.
- 186.MEISSNER, G., AND D. MCKINLEY. Permeability of canine cardiac sarcoplasmic reticulum vesicles to K^{+} , Na^{+} , H^{+} , and CP. *J. Biol. Chem.* 257: 7704-7711, 1982.
- 187.MITSUIYE, T., AND A. NOMA. Exponential activation of the cardiac Na^{+} current in single guinea-pig ventricular cells. *J. Physiol. (Lond.)* 453: 261-277, 1992.
- 188.MORENO, A. P., G. I. FISHMAN, AND D. C. SPRAY. Phosphorylation shifts unitary conductance and modifies voltage dependent kinetics of human connexin43 gap junction channels. *Biophys. J.* 62: 51-53, 1992.

- 189.MORENO, A. P., M. B. ROOK, G. I. FISHMAN, AND D. C. SPRAY. Gap junction channels: distinct voltage-sensitive and insensitive conductance states. *Biophys. J.* 67: 113-119, 1994.
- 190.NABAUER, M., D. J. BEUCKELMANN, AND E. ERDMANN. Characteristics of transient outward current in human ventricular myocytes from patients with terminal heart failure. *Circ. Res.* 73: 386-394, 1993.
- 191.NICHOLS, C. G., E. N. MAKHINA, W. L. PEARSON, Q. SHA. Inward rectification and implication for cardiac excitability. *Circ. Res.* 78:1-7,1996
- 192.NOMA, A. ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle. *Nature* 305: 147-148, 1983.
- 193.NOMA, A. Ionic mechanisms of the cardiac pacemaker potential. *Jpn. Heart J.* 37: 673-682, 1996.
- 194.NOMA, A., AND W. TRAUTWEIN. Relaxation of the ACh-induced potassium current in the rabbit sinoatrial node cell. *Pflugers Arch.* 377: 193-200, 1978.
- 195.NOMA, A, AND N. TSUBOI. Dependence of junctional conductance on proton, calcium and magnesium ions in cardiac paired cells of guinea-pig. *J. Physiol, (Lond.)* 382: 193-211, 1987.
- 196.ONO, K., AND H. ITO Role of rapidly activating delayed rectifier K⁺ current in sinoatrial node pacemaker activity. *Am. J. Physiol.* 269 (Heart Circ. Physiol. 38): H453-H462, 1995.
- 197.OZ, M. C, AND S. SOROTA. Forskolin stimulates swelling-induced chloride current, not cardiac cystic fibrosis transmembrane-conductance regulator current, in human cardiac myocytes. *Circ. Res.* 76: 1063-1070, 1995.
- 198.PAPP, Z., K. R. SIPIDO, G. CALLEWAERT, AND E. CARMELIET. Two components of [Ca²⁺]_i-activated Cl⁻ current during large [Ca²⁺]_i transients in single rabbit heart Purkinje cells. *J. Physiol, (Lond.)* 483: 319-330, 1995.
- 199.PETERS, N. S., AND A. L. WIT. Myocardial architecture and ventricular arrhythmogenesis. *Circulation* 97: 1746-1754, 1998.
- 200.PHILIPSON, K.D.,D.A., NICOLL, S. Molecular regulation of the Na-Ca exchanger. *Ann.NY Acad Sci.* 779: 20-28, 1996.
- 201.PIPER, H. M., AND A. DAS. Detrimental actions of endogenous fatty acids and their derivatives. A study of ischaemic mitochondrial injury. *Basic Res. Cardiol.* 1: 187-196, 1987.
- 202.PORCIATTI, F., B. PELZMANN, E. CERBAI, P. SCHAFFER, R. PINO, E. BERNHART, B. KOIDL, AND A. MUGELLI. The pacemaker current *I_f* in single

- human atrial myocytes and the effect of adrenoceptor and A₁-adenosine receptor stimulation. *Br. J. Pharmacol.* 122: 963-939, 1997.
- 203.PRIORI, S. G., AND P. B. CORR. Mechanisms underlying early and delayed afterdepolarizations induced by catecholamines. *Am. J. Physiol.* 258 (*Heart Circ. Physiol.* 27): H1796-H1805, 1990.
- 204.REUVENY, E., P. A. SLESINGER, J. INGLESE, J. M. MORALES, J. A. INIGUEZ LLUHI, R. J. LEFKOWITZ, H. R. BOURNE, Y. N. JAN, AND L. Y. JAN. Activation of the cloned muscarinic potassium channel by G protein subunits. *Nature* 370: 143-146, 1994.
- 205.RICHMOND, J. E., D. E. FEATHERSTONE, H. A. HARTMANN, AND P. C. RUBEN. Slow inactivation in human cardiac sodium channels. *Biophys. J.* 74: 2945-2952, 1998.
- 206.RODRIGO, G. C. The Na⁺-dependence of Na⁺ activated K⁺ channels in guinea pig ventricular myocytes, is different in excised inside/out patches and cell attached patches. *Pflugers Arch.* 422: 530-532, 1993.
- 207.ROSENBERG, R. L., P. HESS, and R. W. TSIEN. Cardiac calcium channels in planar lipid bilayers. L-type channels and calcium-permeable channels open at negative membrane potentials. *J. Gen. Physiol.* 92: 27-54, 1988.
- 208.ROSTOVTSEVA, T., and M. COLOMBINI. VDAC channels mediate and gate the flow of ATP: implications for the regulation of mitochondrial function. *Biophys. J.* 72: 1954-1962, 1997.
- 209.ROUSSEAU, E. Single chloride-selective channel from cardiac sarcoplasmic reticulum studied in planar lipid bilayers. *Membr.Biol.* 110: 39-47, 1989.
- 210.ROUSSEAU, E., H. CHABOT, C. BEAUDRY, and B. MULLER. Reconstitution and regulation of cation-selective channels from cardiac sarcoplasmic reticulum. *Mol. Cell. Biochem.* 114: 109-117, 1992.
- 211.SADOSHIMA, J.-I., and S. IZUMO. Mechanical stretch rapidly activates multiple signal transduction pathways in cardiac myocytes: potential involvement of an autocrine/paracrine mechanism. *EMBO J.* 12: 1681-1692, 1993.
- 212.SAFFITZ, J. E., L. M. DAVIS, B. J. DARROW, H. L. KANTER, J. G. LAING, and E. C. BEYER. The molecular basis of anisotropy: role of gap junctions. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 6: 498-510, 1995.
- 213.SAKAI, R., N. HAGIWARA, H. KASANUKI, and S. HOSODA. Chloride conductance in human atrial cells. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 27: 2403-2408, 1995.

- 214.SAKAI, R., N. HAGIWARA, N. MATSUDA, H. KASANUKI, and S. HOSODA. Sodium-potassium pump current in rabbit sino-atrial node cells. *J. Physiol. (Lond.)* 490: 51-62, 1996.
- 215.SANGUINETTI, M. C. Na_r-activated and ATP-sensitive K⁺ channels in the heart. In *Potassium Channels. Basic Function and Therapeutic Aspects*, edited by T. J. Colatsky. New York: Liss, 1990, p. 85-109.
- 216.SANGUINETTI, M. C, C. JIANG, M. E. CURRAN, AND M. T. KEATING. A mechanistic link between an inherited and an acquired cardiac arrhythmia: HERG encodes the IKr potassium channel. *CELL* 81: 299-307, 1995.
- 217.SANGUINETO, M. C, AND N. K. JURKIEWICZ. Two components of cardiac delayed rectifier K⁺ current. Differential sensitivity to block by class III antiarrhythmic agents. *J. GEN. PHYSIOL*, 96: 195-215, 1990.
- 218.SATO, T., B. O'ROURKE, AND E. MARBAN. Modulation of mitochondrial ATP-dependent K¹ channels by protein kinase C. *CIRC. RES.* 83: 110-114, 1998.
- 219.SHAM, J. S., S. N. HATEM, AND M. MORAD. Species differences in the activity of the Na⁺-Ca²⁺ exchanger in mammalian cardiac myocytes. *J. Physiol. (Lond.)* 488: 623-631, 1995.
- 220.SHANNON, T. R., AND D. M. BERS. Assessment of intra-SR free [Ca] and buffering in rat heart. *Biophys. J.* 73: 1524-1531, 1997.
- 221.SHAW, R. M., AND Y. RUDY. The vulnerable window for unidirectional block in cardiac tissue: characterization and dependence on membrane excitability and intercellular coupling. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 6: 115-131, 1995.
- 222.SHAW, R. M., AND Y. RUDY. Ionic mechanisms of propagation in cardiac tissue. Roles of the sodium and L-type calcium currents during reduced excitability and decreased gap junction coupling. *Circ. Res.* 81: 727-741, 1997.
- 223.SHIBASAKI, T. Conductance and kinetics of delayed rectifier potassium channels in nodal cells of the rabbit heart. *J.Physiol.(Lond.)* 387:227-250, 1987.
- 224.SHIBATA, E. F., T. DRUHY, H. REFSUM, V. ALDRETE. Contributions of a transient outward current to repolarization in human atrium. *Am. J. Physiol.* 257 (*Heart Circ. Physiol.* 26): H1773-H1781, 1989.
- 225.SHIMONY, Y., R. B. CLARK, W. R. GILES. Role of an inwardly rectifying potassium current in rabbit ventricular action potential. *J. Physiol. (Lond.)* 448: 709-727, 1992.

226. U SHOROVSKY, S. R., C. T. JANUARY. L- and T-type Ca^{2+} channels in canine cardiac Purkinje cells. Single-channel demonstration of L-type Ca^{2+} window current. *Circ. Res.* 70: 456-464, 1992.
227. SHUBA, L. M., T. OGURA, T. F. Mc DONALD. Kinetic evidence distinguishing volume-sensitive chloride current from other types in guinea pig ventricular myocytes. *J. Physiol (Lond.)* 491: 69-80, 1996
228. SIMBULA, G., P. A. GLASCOTT, J., S. AKITA, J. B. HOEK, AND J. L. FARBER. Two mechanisms by which ATP depletion potentiates induction of the mitochondrial permeability transition. *Am. J. Physiol.* 273 (*Cell Physiol.* 42): C479-C488, 1997.
229. SIPIDO, K. R., G. CALLEWAERT, AND E. CARMELIET. Inhibition and rapid recovery of Ca^{2+} current during Ca^{2+} release from sarcoplasmic reticulum in guinea pig ventricular myocytes. *Circ. Res.* 76: 102-109, 1995.
230. SIPIDO, K. R., G. CALLEWAERT, F. PORCIATTI, J. VEREECKE, AND E. CARMELIET. $[\text{Ca}^{2+}]_i$ -dependent membrane currents in guinea-pig ventricular cells in the absence of Na/Ca exchange. *Pflugers Arch.* 430: 871-878, 1995.
231. SIPIDO, K. R., AND W. G. WIER. Flux of Ca^{2+} across the sarcoplasmic reticulum of guinea-pig cardiac cells during excitation-contraction coupling. *J. Physiol, (Lond.)* 435: 605-630, 1991.
232. SORGATO, M. C, B. U. KELLER, AND W. STUHMER. Patch-clamping of the inner mitochondrial membrane reveals a voltage-dependent ion channel. *Nature* 330: 498-500, 1987.
233. SOROTA, S. Swelling-induced chloride-sensitive current in canine atrial cells revealed by whole-cell patch-clamp method. *Circ. Res.* 70: 679-687, 1992.
234. SPACH, M. S., AND J. F. HEIDLAGE. The stochastic nature of cardiac propagation at a microscopic level. Electrical description of myocardial architecture and its application to conduction. *Circ. Res.* 76: 366-380, 1995.
235. SPRAY, D. C, AND J. M. BURT. Structure-activity relations of the cardiac gap junction channel. *Am. J. Physiol*, 258 (*Cell Physiol.* 27): C195-C205, 1990.
236. SUN, H., N. LEBLANC, AND S. NATTEL. Mechanisms of inactivation of L-type calcium channels in human atrial myocytes. *Am. J. Physiol.* 272 (*Heart Circ. Physiol.* 41): H1625-H1635, 1997.
237. SZABO, I., AND M. ZORATTI. The mitochondrial megachannel is the permeability transition pore. *J. Bioenerg. Biomembr.* 24: 111-117, 1992.

238. TILLY, B. C., N. VAN DEN BERGHE, L. G. TERTOOLEN, M. J. EDIXHOVEN, AND H. R. DE JONGE. Protein tyrosine phosphorylation is involved in osmoregulation of ionic conductances. *J. Biol. Chem.* 268: 19919-19922, 1993.
239. TOYAMA, J., H. SUGIURA, K. KAMIYA, I. KODAMA, M. TERASAWA, AND H. HIDAKA. Ca^{2+} -calmodulin mediated modulation of the electrical coupling of ventricular myocytes isolated from guinea pig heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 26: 1007-1015, 1994.
240. TSENG, G. N. Cell swelling increases membrane conductance of canine cardiac cells: evidence for a volume-sensitive Cl^- channel. *Am. J. Physiol.* 262 (*Cell Physiol.* 31): C1056-C1068, 1992.
241. VAN KOPPEN. Activation of a highaffinity G, protein-couplet plasma membrane receptor by sphingosine-1-phosphate. *J. Biol. Chem.* 271: 2082-2087, 1996.
242. VASSALLE, M. Electrogenic suppression of automaticity in sheep and dog Purkinje fibres. *Circ. Res.* 27: 361-377, 1970.
243. VASSORT, G., AND J. ALVAREZ. Cardiac T-type calcium current: pharmacology and roles in cardiac tissues. *J. Cardiovasc. Elec-trophysiol.* 5: 376-393, 1994.
244. VEENSTRA, R. D., AND R. L. DEHAAN. Cardiac gap junction channel activity in embryonic chick ventricle cells. *Am. J. Physiol.* 254 (*Heart Circ. Physiol.* 23): H170-H180, 1988.
245. VELDKAMP, M. W., A. C. VAN GINNEKEN, AND L. N. BOUMAN. Single delayed rectifier channels in the membrane of rabbit ventricular myocytes. *Circ. Res.* 72: 865-878, 1993.
246. VELDKAMP, M. W., A. C. VAN GINNEKEN, T. OPTHOF, AND L. N. BOUMAN. Delayed rectifier channels in human ventricular myocytes. *Circulation* 92: 3497-3504, 1995.
247. VERSELIS, V. K., C. S. GINTER, AND T. A. BARGIELLO. Opposite voltage gating polarities of two closely related connexins. *Nature* 368: 348-351, 1994.
248. VOLDERS, P. G. A., K. R. SIPIDO, E. CARMELIET, R. L. H. M. G. SPÄTJENS, H. J. J. WELLENS, AND M. A. VOS. Repolarizing K^+ currents are larger in right than left canine ventricular midmyocardium. *Circulation* 99: 206-210, 1999.
249. WAGNER, M. B., D. GOLOD, R. WILDERS, E. E. VERHEIJCK, R. W. JOYNER, R. KUMAR, H. J. JONGSMA, A. C. VAN GIN-NEKEN, AND W. N. GOOLSBY. Modulation of propagation from an ectopic focus by electrical load and by

- extracellular potassium. *Am. J. Physiol.* 272 (*Heart Circ. Physiol.* 41): H1759-H1769, 1997.
250. WALLERT, M. A., M. J. ACKERMAN, D. KIM, AND D. E. CLAPHAM. Two novel cardiac atrial K⁺ channels, IK_{AA} and IK_{PC}. *Gen. Physiol.* 98: 921-939, 1991.
 251. WALSH, K. B., AND R. S. KASS. Regulation of a heart potassium channel by protein kinase A and C. *Science* 242: 67-69, 1988.
 252. WANG, H. Z., J. LI, L. F. LEMANSKI, AND R. D. VEENSTRA. Gating of mammalian cardiac gap junction channels by transjunctional voltage. *Biophys. J.* 63: 139-151, 1992.
 253. WANG, S. Y., J. R. CLAGUE, AND G. A. LANGER. Increase in calcium leak channel activity by metabolic inhibition or hydrogen peroxide in rat ventricular myocytes and its inhibition by polyca-tion. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 27: 211-222, 1995.
 254. WANG, Z., B. FERMINI, AND S. NATTEL. Effects of flecainide, quinidine, and 4-aminopyridine on transient outward and ultra-rapid delayed rectifier currents in human atrial myocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 272: 184-196, 1995.
 255. WANG, Z., L. K. TAYLOR, W. D. DENNEY, AND D. E. HANSEN. Initiation of ventricular extrasystoles by myocardial stretch in chronically dilated and failing canine left ventricle. *Circulation* 90: 2022-2031, 1994.
 256. WARTH, J. D., M. L. COLLIER, P. HART, Y. GEARY, C. H. GEL-BAND, T. CHAPMAN, B. HOROWITZ, AND J. R. HUME. CFTR chloride channels in human and simian heart. *Cardiovasc. Res.* 31: 615-624, 1996.
 257. WEINGART, R., AND P. MAURER. Action potential transfer in cell pairs isolated from adult rat and guinea pig ventricles. *Circ. Res.* 63: 72-80, 1988.
 258. WEISS, J. N., AND N. VENKATESH. Metabolic regulation of cardiac ATP-sensitive K⁺ channels. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 3: 499-505, 1993.
 259. WETTWER, E., G. AMOS. J. GATH, H. R. ZERKOWSKI, J. C. REIDEMEISTER, AND U. RAVENS. Transient outward current in human and rat ventricular myocytes. *Cardiovasc. Res.* 27: 1662-1669, 1993.
 260. WICKMAN, K., AND D. E. CLAPHAM. Ion channel regulation by G proteins. *Physiol. Rev.* 75: 865-885, 1995.
 261. WIT, A. L., AND M. J. JANSE. Experimental models of ventricular tachycardia and fibrillation caused by ischemia and infarction. *Circulation* 85, *Suppl. I*: I-32-I-42, 1992.

262. WIT, A. L., AND M. J. JANSE. *The Ventricular Arrhythmias of Ischemia and Infarction. Electrophysiological Mechanisms*. Mount Kisco, NY: Futura, 1993, p. 648.
263. WOODCOCK, E. A., K. A. LAMBERT, T. PHAN, AND A. N. JACOB-SEN. Inositol phosphate metabolism during myocardial ischemia. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 29: 449-460, 1997.
264. YAMADA, M., Y. HAMAMORI, H. AKITA, AND M. YOKOYAMA. P₂-purinoceptor activation stimulates phosphoinositide hydrolysis and inhibits accumulation of cAMP in cultured ventricular myocytes. *Circ. Res.* 70: 477-485, 1992.
265. YAMADA, M., AND Y. KURACHI. Spermine gates inward-rectifying muscarinic but not ATP-sensitive K⁺ channels in rabbit atrial myocytes. Intracellular substance-mediated mechanism of inward rectification. *J. Biol. Chem.* 270: 9289-9294, 1995.
266. YANG, J., Y. N. JAN, AND L. Y. JAN. Control of rectification and permeation by residues in two distinct domains in an inward rectifier K⁺ channel. *Neuron* 14: 1047-1054, 1995.
267. YU, H., F. CHANG, AND I. S. COHEN. Pacemaker current exists in ventricular myocytes. *Circ. Res.* 72: 232-236, 1993.
268. YU, H., F. CHANG, AND I. S. COHEN. Pacemaker current *i_t* in adult canine cardiac ventricular myocytes. *J. Physiol. (Lond.)* 485: 469-483, 1995.
269. YUE, L., J. FENG, R. GASPO, G. R. LI, Z. WANG, AND S. NATTEL. Ionic remodeling underlying action potential changes in a canine model of atrial fibrillation. *Circ. Res.* 81: 512-525, 1997.
270. YUE, L., J. FENG, G.-R. LI, AND S. NATTEL. Characterization of an ultrarapid delayed rectifier potassium channel involved in canine atrial repolarization. *J. Physiol. (Lond.)* 496: 647-662, 1996.
271. ZHENG, J. S., A. CHRISTIE, M. N. LEVY, AND A. SCARPA. Modulation by extracellular ATP of two distinct currents in rat myocytes. *Am. J. Physiol.* 264 (Cell Physiol. 33): C1411-C1417, 1993.
272. ZHOU, Z., R. I. HUME. Two mechanisms for inward rectification of current flow through the purinoceptor P2X₂ class of ATP-gated channels. *J. Physiol.* 507: 353-364, 1998.
273. ZHOU, Z., L. LIPSIUS. Effect of isoprenaline on current in latent Pacemaker cells isolated from cat right atrium: ruptured vs perforated patch whole-cell recording methods. *Pflugers Arch.* 423: 442-447, 1993.

- 274.ZIZI, M., M. FORTE, E. BLACHLY-DYSON. NADH regulates the gating of VDAC, the mitochondrial outer membrane channel. *J. Biol. Chem.* 269: 1614-1616, 1994
- 275.ZYGMUND, A. C., W. R. GIBBONS. Calcium-activated chloride current in rabbit ventricular myocytes. *Circ. Res.* 68: 424-437, 1991.
- 276.REVEAL[®] PLUS 9526, Insertable Loop Recorder System, Technical Manual, Medtronic, Inc. 2001.
- 277.REVEAL[®] XT 9529, Insertable Cardiac Monitor, Technical Manual, Medtronic, Inc. 2008.
- 278.RIEGER, G. XPECT, Clinical Investigation Plan, Version 1, 2007.
- 279.BECKERS, F. VISIT, Clinical Investigation Plan, Version 1, 2007.
- 280.REVEAL[®] XT 9529, Insertable Cardiac Monitor, Clinician Manual, 2007.

Příloha A

Certifikáty firmy MEDTRONIC k pověření účasti na multicentrické studii a o absolvování specializovaného školení.













Delegated Tasks List

Study Name:	VISIT	Principal Investigator:	M. Thurn	Institution:	Hennepin County
-------------	-------	-------------------------	----------	--------------	-----------------

Although as Principal Investigator I remain responsible for the proper conduct of the study, I hereby authorize the following co-investigators, members of the participating institution's staff and Medtronic personnel to perform the tasks assigned to him/her. I affirm that each member of the participating institution staff listed below have been trained and qualified prior to performing the task(s) delegated.

Each person indicated below, by signing, agrees to comply with the Clinical Investigation Plan, and the applicable regulations for the study when performing his/her assigned task(s).

Authorized Personnel		Principal Investigator: <Hard Code PI Name> PI Initials: <u>M. T.</u>				END: Authorized Personnel on Delegated Task(s)	
START: Authorized Personnel to Perform Delegated Tasks							
Printed or Typed Name	Authorized Personnel Signature	Initials	Tasks	Principal Investigator Signature	Date ² of PI signature	Task End Date ³	PI Initials ³
R. VOPALKA		RV	1		11.11.2007		
M. Kohnert		MK	1		11.11.2007		
N. GLOEROV		NG	1		11.11.2007		
J. VU HOU		JV	1		11.11.2007		
J. KUPEC		JK	1		11.11.2007		

¹Task numbering:

- 1 Informed consent process
- 2 Follow-up procedures
- 3 Completion/ correction of CRFs prior to sign off
- 4 Hoiter accountability

Medtronic personnel may only be delegated tasks 3-5

- 5 Technical support at follow-up/ device programming
- 6 CRF sign off (PI or MD only)
- 7 All tasks, except CRF sign off (1 - 5)
- 8 All tasks (1 - 6)

² Date: Investigator signature date indicates when the person has been authorized to complete the delegated task(s). The authorized individual may start performing the task ONLY AFTER she has been trained and qualified to do so.

³ Task End Date / Initials: Does not require completion at study closure

Version 1
04 DEC 2007

VISIT Delegated Tasks List
Medtronic Confidential

Page 2 of 4
CSS-2101.0017.4v4

**Medtronic****Study Personnel Training Document**

Study Name:	VISIT
Training provided to:	<input checked="" type="checkbox"/> Study Center Personnel: Name (Print) <i>R. Vopalka</i> Principal Investigator: Prof. dr. Doc. MUDr. Miloš Táborský, CSc. Center/ Institution: Nemocnice Na Homolce <input type="checkbox"/> Medtronic Study Personnel: (or CRO Personnel) Name (Print)

Initial Study Training	
Training Components (Include version or date of material)	Date Completed* <DD MMM YYYY>
<input checked="" type="checkbox"/> All initial training completed the same day: (If checked, individual dates do not have to be completed)	
Clinical Investigation Plan, CMD 470 v.1, 3 Dec. 2007	<i>10-12-2007</i>
Training material PP Presentation, v.1 5 Dec. 2007	<i>10-12-2007</i>

* If not applicable, indicate "N/A" and explain in the Date Completed column

I have been provided training on all aspects of the above-specified Medtronic study that are relevant and pertinent to my involvement in the study. I understand that the information provided must be treated as confidential.

<i>R. VOPALKA</i>	<i>Vopalka</i>	<i>10.12.2007</i>
Study Personnel	Signature	Date

Trainer	Signature	Date
<i>Jos van Hove</i>	<i>[Signature]</i>	<i>10-12-2007</i>

Version 1
3 Dec. 2007

VISIT Study Personnel Training Document
Medtronic Confidential

Page 1 of 2
CSS.2101.0016.1v4

